



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

약학박사 학위논문

개면마와 의성개나리 지하부의
페놀성 화학성분 및 항바이러스활성

Phenolic Constituents of
Pentarhizidium orientale Rhizomes
and *Forsythia viridissima* Roots
and Their Antiviral Activities

2018 년 2 월

서울대학교 대학원

약학과 생약학전공

허정무

국문 초록

개면마 (*Pentarhizidium orientale* (Hook.) Hayata) (syn. *Matteuccia orientalis*) 는 야산고비과 (onocleaceae) 에 속하는 다년생 양치식물로 중국, 일본, 우리나라와 같은 동아시아에 분포하고 있으며, 우리나라에서는 민간에서 이뇨 및 구충작용에 사용해온 것으로 전해진다. 이 식물에서 기존에 분리보고된 화학성분들로는 flavonoid 계열, isocoumarin 계열, phthalide 계열, stilbene 계열 등이 보고가 되었다.

개면마 뿌리줄기의 총 MeOH 추출물을 물에 현탁한 후, 극성에 따라 CH₂Cl₂, n-BuOH, 물층으로 분획하였으며, 다양한 크로마토그래피 기법을 활용하여 분리를 진행하였다. 그 결과, flavonoid 계열 27종, chromone 계열 1종, stilbene 계열 4종을 포함하여 총 32종의 화합물들을 분리하고 이화학적 및 분광학적 분석을 통해 각각의 기준문헌들과 참고하여 구조동정을 수행하였다. 분리한 화합물들 중에서 13종의 flavonoid 배당체 (1-13)와 2종의 stilbene (31-32) 은 신규 화합물임을 확인하였고, 분리한 flavonoid 들은 naringenin (27)을 제외하고 모두 C-methylation 이 되어있는 특징을 나타내었다. 또한, 화합물 1-8, 14-16 번은 특이적인 3-hydroxy-3-methylglutaric acid (HMG) 잔기를 포함하는 flavonoid 배당체임을 확인하였다,

분리한 화합물들에 대하여 H1N1 인플루엔자 바이러스에 대한 항바이러스활성을 평가하였을 때, stilbene 계열보다 flavonoid 계열에서 활성을 보였으며, flavonoid 배당체보다 flavonoid aglycone (21-23, 25, 26) 에서 더 좋은 활성을 확인하였다.

의성개나리 (*Forsythia viridissima* Ldl.)는 몰푸레나무과 (oleaceae) 에 속하는 식물로 개나리속 식물들은 대부분 동아시아에 11종이 자생하고 있고, 우리나라에는 개나리속 식물 8종이 자생하는 것으로 보고되어있다. 잘 알려진 약재인 '연교(連翹)' 는 의성개나리와 당개나리의 열매를 일컬으며, 대표적인 물질로는 arctigenin 과

forsythiaside A 가 있다. 의성개나리에서 보고된 주된 화학성분으로는 lignan 계열, phenylethanoid 계열 배당체, triterpenoid 계열, flavonoid 계열, iridoid 계열 등이 보고되었다. 항염증, HepG2 세포를 이용한 지질 대사, 항산화 등의 활성연구가 보고되어있으며, 대부분의 분리 및 활성에 대한 연구는 열매에 대한 것들이 대부분을 차지한다.

의성개나리 뿌리의 총 MeOH 추출물을 물에 현탁한 후, 극성에 따라 n-hexane, CH₂Cl₂, n-BuOH, 물층으로 분획하였다. 각종 크로마토그래피법을 사용하여 분획물에서 총 16종의 lignan 화합물을 분리하였으며, 그중에서 6종의 dilignan (1-6)과 1종의 lignan 배당체 (16)는 신규화합물로 확인하였다.

분리한 화합물들을 CVB3 및 HRV1B 장내바이러스에 대하여 항바이러스 활성을 평가하였을 때, 화합물 12, 15, 16 은 CVB3 바이러스에 효과를 나타내었으며, 화합물 2는 HRV1B 바이러스에 대하여 항바이러스 효과를 확인하였다.

주요어: 개면마, 야산고비과, C-methylated flavonoid 배당체, stilbene, 의성개나리, 물푸레나무과, dilignan

학번: 2012-30469

목 차

Part 1. 개면마 뿌리줄기에서 분리한 C-methylated flavonoids	
와 stilbenes 의 항바이러스활성.....	1
제 1장 서 론	1
1.1. 연구의 배경.....	1
1.2. 연구의 목적.....	10
제 2 장 실험 재료와 방법.....	12
2.1. 재료.....	12
2.2 실험 방법	15
제 3장 연구의 결과와 고찰.....	55
3.1. 개면마에서 분리한 화합물의 구조 설명	55
3.2. 개면마에서 분리한 화합물들의 활성평가.....	151
제 4장 결 론	153
Part 2. 의성개나리 뿌리에서 분리한 dilignans 의 항바이러스활성	154
제 1장 서 론	155
1.1 연구의 배경.....	155
1.2. 연구의 목적.....	165
제 2장 실험 재료와 방법	169
2.1. 재료.....	169
2.2. 실험 방법	169
제 3장 연구의 결과와 고찰.....	196
3.1. 의성개나리에서 분리한 화합물의 구조 설명.....	196
3.2. 의성개나리에서 분리한 화합물들의 활성 평가	278
제 4장 결 론	280
Part 3. 참고 문헌.....	281

List of Tables

Part 1. 개면마 뿌리줄기에서 분리한 C-methylated flavonoids 와 stilbenes 의 항바이러스 활성

Table 1. Collection list of korean native pteridophytes.....	2
Table 2. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 1–4	31
Table 3. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 5–8.....	34
Table 4. ¹ H and ¹³ C NMR data of Compounds 9–13	37
Table 5. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 14–16.....	40
Table 6. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 17–20.....	43
Table 7. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 21–24.....	45
Table 8. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 25–28.....	47
Table 9. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 29, 30	49
Table 10. Inhibitory effects of selected compounds on neuraminidase activities in the H1N1–induced CPE assay	152

Part 2. 의성개나리 뿌리에서 분리한 dilignans 의 항바이러스 활성

Table 11. Pharmacological studies reported in <i>Forsythia</i>	158
Table 12. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 1–4.....	180
Table 13. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 5–8.....	184
Table 14. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 9–12	188
Table 15. ¹ H and ¹³ C NMR data of compounds 13–16	191

List of Figures

Part 1. 개면마 뿌리줄기에서 분리한 C-methylated flavonoids 와 stilbenes 의 항바이러스 활성

Figure 1. MS chromatogram of <i>P. orientale</i> rhizome	4
Figure 2. Chemical structures of reported compounds from <i>P. orientale</i>	6
Figure 3. Chemical structures of reported C-methylated flavonoids.....	7
Figure 4. Biosynthesis pathway of flavonoids.....	8
Figure 5. Tentative identification with reported compounds from <i>P. orientale</i>	11
Figure 6. Aerial parts (left) and rhizomes (right) of <i>P. orientale</i> ...	12
Figure 7. ¹ H NMR spectrum of compound 1	57
Figure 8. ¹³ C NMR spectrum of compound 1	58
Figure 9. COSY spectrum of compound 1	59
Figure 10. HMBC spectrum of compound 1	60
Figure 11. ECD spectrum of compound 1	61
Figure 12. NMR values of reaction product of HMG moiety	62
Figure 13. ¹ H NMR spectrum of compound 2	64
Figure 14. ¹³ C NMR spectrum of compound 2	65
Figure 15. ¹ H NMR spectrum of compound 3	67
Figure 16. ¹³ C NMR spectrum of compound 3	68
Figure 17. HMBC and COSY spectrum of compound 3	69
Figure 18. ¹ H NMR spectrum of compound 4	70
Figure 19. ¹³ C NMR spectrum of compound 4	71
Figure 20. ¹ H NMR spectrum of compound 5	73
Figure 21. ¹ H NMR spectrum of compound 6	74

Figure 22. ^{13}C NMR spectrum of compounds 5 (above) and 6 (below)	75
Figure 23. HMBC spectrum of compounds 5 and 6	76
Figure 24. ECD spectrum of compounds 5 (above) and 6 (below).77	
Figure 25. ^1H NMR spectrum of compound 7	79
Figure 26. ^{13}C NMR spectrum of compounds 7	80
Figure 27. HMBC spectrum of compound 7	81
Figure 28. Chemical structures of compound 8	82
Figure 29. ^1H NMR spectrum of compound 8	83
Figure 30. ^{13}C NMR spectrum of compound 8	84
Figure 31. COSY and HMBC spectrum of compound 8	85
Figure 32. Chemical structure of compound 9	86
Figure 33. ^1H NMR spectrum of compound 9	87
Figure 34. ^{13}C NMR spectrum of compound 9	88
Figure 35. Chemical structures of compound 10	89
Figure 36. ^1H NMR spectrum of compound 10	90
Figure 37. ^{13}C NMR spectrum of compound 10	91
Figure 38. ^1H NMR spectrum of compound 11	93
Figure 39. ^{13}C NMR spectrum of compound 11	94
Figure 40. MS/MS of compound 11	95
Figure 41. HMBC spectrum of compound 11	95
Figure 42. Chemical structure of compound 12	96
Figure 43. ^1H NMR spectrum of compound 12	97
Figure 44. ^{13}C NMR spectrum of compound 12	98
Figure 45. Chemical structure of compound 13	99
Figure 46. ^1H NMR spectrum of compound 13	100
Figure 47. ^{13}C NMR spectrum of compound 13	101
Figure 48. ^1H NMR spectrum of compound 14	103
Figure 49. ^{13}C NMR spectrum of compound 14	104

Figure 50. ^1H NMR spectrum of compound 15	105
Figure 51. ^{13}C NMR spectrum of compound 15	106
Figure 52. ^1H NMR spectrum of compound 16	108
Figure 53. ^{13}C NMR spectrum of compound 16	109
Figure 54. ^1H NMR spectrum of compound 17	110
Figure 55. ^{13}C NMR spectrum of compound 17	111
Figure 56. ^1H NMR spectrum of compound 18	113
Figure 57. ^{13}C NMR spectrum of compound 18	114
Figure 58. ^1H NMR spectrum of compound 19	115
Figure 59. ^{13}C NMR spectrum of compound 19	116
Figure 60. ^1H NMR spectrum of compound 20	117
Figure 61. ^{13}C NMR spectrum of compound 20	118
Figure 62. ^1H NMR spectrum of compound 21	120
Figure 63. ^{13}C NMR spectrum of compound 21	121
Figure 64. ^1H NMR spectrum of compound 22	122
Figure 65. ^{13}C NMR spectrum of compound 22	123
Figure 66. ^1H NMR spectrum of compound 23	124
Figure 67. ^{13}C NMR spectrum of compound 23	125
Figure 68. ^1H NMR spectrum of compound 24	126
Figure 69. ^{13}C NMR spectrum of compound 24	127
Figure 70. ^1H NMR spectrum of compound 25	129
Figure 71. ^{13}C NMR spectrum of compound 25	130
Figure 72. ^1H NMR spectrum of compound 26	131
Figure 73. ^{13}C NMR spectrum of compound 26	132
Figure 74. ^1H NMR spectrum of compound 27	134
Figure 75. ^{13}C NMR spectrum of compound 27	135
Figure 76. ^1H NMR spectrum of compound 28	136
Figure 77. ^{13}C NMR spectrum of compound 28	137
Figure 78. ^1H NMR spectrum of compound 29	139

Figure 79. ^{13}C NMR spectrum of compound 29	140
Figure 80. ^1H NMR spectrum of compound 30	141
Figure 81. ^{13}C NMR spectrum of compound 30	142
Figure 82. ^1H NMR spectrum of compound 31	144
Figure 83. ^{13}C NMR spectrum of compound 31	145
Figure 84. HMBC spectrum of compound 31	146
Figure 85. ^1H NMR spectrum of compound 32	147
Figure 86. ^{13}C NMR spectrum of compound 32	148
Figure 87. Chemical structures of isolated compounds from <i>P. orientale</i>	149
Figure 88. Profiling of isolated compounds from <i>P. orientale</i> rhizomes.....	150
Figure 89. Screening results of isolated compounds from <i>P. orientale</i> of neuraminidase activity on H1N1 influenza virus	151

Part 2. 의성개나리 뿌리에서 분리한 dilignans 의 항바이러스 활성

Figure 90. Chemical structures of reported compounds in <i>Forsythia</i>	157
Figure 91. ^1H and ^{13}C NMR shifts of furofurans	161
Figure 92. Chemical shifts of aliphatic protons in lactones.....	162
Figure 93. Chemical structures of reported compounds from <i>F. viridissima</i>	164
Figure 94. MS chromatogram of the parts of <i>F. viridissima</i>	167
Figure 95. MS Chromatograms of the fractions of <i>F. viridissima</i> root	168
Figure 96. Aerial parts (left) and roots (right) of <i>F. viridissima</i> ..	169
Figure 97. ^1H NMR spectrum of compound 1	198

Figure 98. ^{13}C NMR spectrum of compound 1	199
Figure 99. HMBC and COSY spectrum of compound 1	200
Figure 100. Determination of position of methoxy group of compound 1 (NOESY, HMBC).....	201
Figure 101. UV (left) and ECD (right) spectrum of compound 1 .	202
Figure 102. Chemical structure of compound 1	202
Figure 103. Chemical structure of compound 2	204
Figure 104. ^1H NMR spectrum of compound 2	205
Figure 105. ^{13}C NMR spectrum of compound 2	206
Figure 106. HMBC spectrum of compound 2	207
Figure 107. NOESY spectrum of compound 2	208
Figure 108. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 2	209
Figure 109. Chemical structure of compound 3	211
Figure 110. ^1H NMR spectrum of compound 3	212
Figure 111. ^{13}C NMR spectrum of compound 3	213
Figure 112. HMBC spectrum of compound 3	214
Figure 113. NOESY spectrum of compound 3	215
Figure 114. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 3	216
Figure 115. Chemical structure of compound 4	218
Figure 116. ^1H NMR spectrum of Compound 4	219
Figure 117. ^{13}C NMR spectrum of Compound 4	220
Figure 118. HMBC spectrum of compound 4	221
Figure 119. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 4	222
Figure 120. Chemical structure of compound 5	224
Figure 121. ^1H NMR spectrum of compound 5	225
Figure 122. ^{13}C NMR spectrum of compound 5	226

Figure 123. HMBC spectrum of compound 5	227
Figure 124. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 5	228
Figure 125. Chemical structure of compound 6	230
Figure 126. ^1H NMR spectrum of compound 6	231
Figure 127. ^{13}C NMR spectrum of compound 6	232
Figure 128. HMBC spectrum of compound 6	233
Figure 129. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 6	234
Figure 130. Chemical structure of compound 7	236
Figure 131. ^1H NMR spectrum of compound 7	237
Figure 132. ^{13}C NMR spectrum of compound 7	238
Figure 133. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 7	239
Figure 134. Chemical structure of compound 8	241
Figure 135. ^1H NMR spectrum of compound 8	242
Figure 136. ^{13}C NMR spectrum of compound 8	243
Figure 137. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 8	244
Figure 138. Chemical structure of compound 9	245
Figure 139. ^1H NMR spectrum of compound 9	246
Figure 140. ^{13}C NMR spectrum of compound 9	247
Figure 141. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 9	248
Figure 142. Chemical structure of compound 10	249
Figure 143. ^1H NMR spectrum of compound 10	250
Figure 144. ^{13}C NMR spectrum of compound 10	251
Figure 145. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 10	252

Figure 146. Chemical structure of compound 11	253
Figure 147. ^1H NMR spectrum of compound 11	254
Figure 148. ^{13}C NMR spectrum of compound 11	255
Figure 149. Chemical structure of compound 12	256
Figure 150. ^1H NMR spectrum of compound 12	257
Figure 151. ^{13}C NMR spectrum of compound 12	258
Figure 152. Chemical Structure of Compound 13	259
Figure 153. ^1H NMR spectrum of compound 13	260
Figure 154. ^{13}C NMR spectrum of compound 13	261
Figure 155. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 13	262
Figure 156. Chemical Structure of compound 14	263
Figure 157. ^1H NMR spectrum of compound 14	264
Figure 158. ^{13}C NMR spectrum of compound 14	265
Figure 159. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 14	266
Figure 160. Chemical structure of compound 15	267
Figure 161. ^1H NMR spectrum of compound 15	268
Figure 162. ^{13}C NMR spectrum of compound 15	269
Figure 163. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 15	270
Figure 164. ^1H NMR spectrum of compound 16	272
Figure 165. ^{13}C NMR spectrum of compound 16	273
Figure 166. NOESY and HMBC spectrum of compound 16	274
Figure 167. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 16	275
Figure 168. Chemical structure of compound 16	276
Figure 169. Chemical structures of isolated compounds from <i>F. viridissima</i> roots	277

Figure 170. Antiviral activity (left) and cytotoxicity (right)	
of compounds 12 , 15 , and 16 against CVB3 virus.....	278
Figure 171. Antiviral activity (left) and cytotoxicity (right)	
of compound 2 against HRV1B virus.....	279

List of Schemes

Part 1. 개면마 뿌리줄기에서 분리한 C-methylated flavonoids 와 stilbenes 의 항바이러스 활성

Scheme 1. Extraction and fractionation of *P. orientale* rhizome.....15

Scheme 2. Isolation scheme of compounds from *P. orientale*
rhizomes.....18

Part 2. 의성개나리 뿌리에서 분리한 dilignans 의 항바이러스 활성

Scheme 3. Extraction and fractionation of *F. viridissima* roots.....170

Scheme 4. Isolation Scheme of Compounds from *F. viridissima*
roots173

List of Abbreviations

Abbreviates	Description
BSA	bovine serum albumin
CC	column chromatography
CC ₅₀	The half maxical cytotoxic concentration
COSY	correlation spectroscopy
d	doublet
dd	doublet of doublet
DMEM	dulbecco's modified eagle's medium
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide
EC ₅₀	The half maximal effective concentration
ECD	electronic circular dichroism
EtOH	ethanol
FBS	fetal bovine serum
Glc	glucose
h	hours
HMBC	heteronuclear single quantum coherence
HMG	3-hydroxy 3-methylglutaric acid
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
HPLC	high performance liquid chromatography
HRESIMS	high resolution electrospray ionization mass spectrometry
HSQC	heteronuclear single quantum coherence
Hz	herz
IC ₅₀	The half maximal inhibitory concentration
IR	infrared radiation

LiBH ₄	lithium borohydrate
m	multiplet
MDCK	Madin–Darby canine kidney
MeOH	methanol
MPLC	middle performance liquid chromatography
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -butanol
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear overhauser enhancement spectroscopy
PyBOP	(benzotriazol-1-yl)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
Rha	rhamnose
RP	reverse phase
RT	room temperature
s	singlet
t	triplet
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography
UV	ultraviolet absorption spectroscopy
[α] _D	specific rotation

**Part 1. 개면마 뿌리줄기에서 분리한
C-methylated flavonoids 와 stilbenes 의
항바이러스활성**

제 1장 서 론

1.1. 연구의 배경

양치식물은 관다발을 가지지만 꽃이 피지않는 식물로 정의되며, 예부터 인도, 중국 및 우리나라에서 음식, 차, 약으로 사용되어 왔다. 약 46,000여종이 지구상에 존재하는 것으로 알려져 있고, 그 중에서 우리나라에는 280여종의 양치식물이 자생하는 것으로 보고되어 있다. 우리나라에는 주로 남부지방과 제주도에 대부분의 양치식물이 서식 하는 것으로 알려져있다. 그 외에도 중부지방 및 도시 근교의 작은 야산에도 여러 종이 존재하고 있으며, 울릉도 같은 도서지역에도 분포하고 있다고 알려져있다. (국립수목원, 2017) 지금까지도 다양하고 수많은 양치식물에 대한 연구가 전세계적으로 활발히 진행되고 있으며, 그 중에서도 시장성있는 대표적인 물질로는 뱀톱 (*Huperzia serrata*) 에서 분리된 Huperzine A 가 있으며, 이 화합물은 알츠하이머 치료에 사용되며, 아세틸콜린분해 억제효소로 사용되고 있다. 또한, 토끼발고사리 (*Polypodium leucomotos*) 의 잎 추출물인 Calagualine 은 NF- κ B 를 차단하여 염증관련 인자들을 저해하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 그 외에도, selaginella 속에서 분리된 독특한 selaginellin 계열 화합물들은 꽃이 피는 속씨 식물들에서 분리된 적이 없는 양치식물의 대표적인 화합물이라고 할 수 있다. 이와 같이 양치식물의 연구는, 특이적인 화학구조를 분리하여 연구 소재로서의 가치가 있는 물질을 얻거나, 더 나아가 생리활성이 우수한 물질 및 추출물로 새로운 천연물 신약 후보 물질 발굴의 잠재성을 가질 수 있다.

이에 본 연구에서는 특이적인 화학구조를 가지는 물질을 분리하고자 하였으며, 본 연구실에서 소유하고 있는 43여종의 양치식물들 (Table 1)의 MS 크로마토그램을 확보하고 기존의 보고된 문헌들을 활용하여 profiling을 수행하였다. 그 중에서, 개면마 (*Pentarhizidium orientale* (Hook.) Hayata))의 뿌리줄기에서 특이적인

144의 MS fragment 값을 다수 가지는 것을 확인하였다. (Figure 1) Flavonoid 골격에 두 개의 methyl기를 가지는 모핵으로 추정되는 피크와 그 배당체에 특이적인 MS fragment 값을 가지는 피크들을 다수 확인하였다.

Table 1. Collection list of korean native pteridophytes

생체시료명	학명	부위
개면마	<i>P. orientale</i>	지상, 지하부
고비	<i>O. japonica</i>	지상, 지하부
관중	<i>D. crassirhizoma</i>	지상, 지하부
뱀고사리	<i>A. Yokoscense</i>	전초
산개고사리	<i>A. Vidalii</i>	전초
산일엽초	<i>L. ussuriensis</i>	전초
설설고사리	<i>P. decursive-pinnata</i>	전초
왕지네고사리	<i>D. monticola</i>	지상, 지하부
잔고사리	<i>D. hirsuta</i>	전초
지네고사리	<i>T. japonica</i>	전초
진고사리	<i>D. japonica</i>	전초
풀고사리	<i>D. glaucum</i>	전초
홍지네고사리	<i>D. erythrosora</i>	지상, 지하부
황고사리	<i>D. wilfordii</i>	전초
꼬리고사리	<i>A. incisum</i>	전초
십자고사리	<i>P. tripteron</i>	전초
곰비늘고사리	<i>D. uniformis</i>	지상, 지하부
나도히초미	<i>P. polyblepharum</i>	지상, 지하부
넉줄고사리	<i>D. mariesii</i>	지상, 지하부
도깨비고비	<i>C. falcatum</i>	지상, 지하부
부처손(권백)	<i>S. tamariscina</i>	지상, 지하부

석송	<i>L. clavatum</i>	전초
봉의꼬리	<i>P. multifidi</i>	전초
뱀톱	<i>H. serrata</i>	지상, 지하부
애기석위	<i>P. petiolosa</i>	전초
바위손	<i>S. involvens</i>	전초
개부처손	<i>S. stauntoniana</i>	전초
검정개관중	<i>P. tsus-simense</i>	전초
참나도히초미	<i>P. ovato-paleaceum</i>	전초
손고비	<i>C. elliptica</i>	전초
응달고사리	<i>C. crenulatoserrulata</i>	전초
가지고비고사리	<i>C. japonica</i>	전초
고사리삼	<i>B. ternatum</i>	전초
개톱날고사리	<i>A. sheareri</i>	전초
실고사리	<i>L. japonicum</i>	전초
밤일엽	<i>N. ensata</i>	전초
세뿔석위	<i>P. hastate</i>	전초
왕석위	<i>P. splendens</i>	전초
창날석위	<i>P. lanceolate</i>	전초
석위	<i>P. lingua</i>	전초
일색고사리	<i>A. standishii</i>	전초

Negative Ion Mode

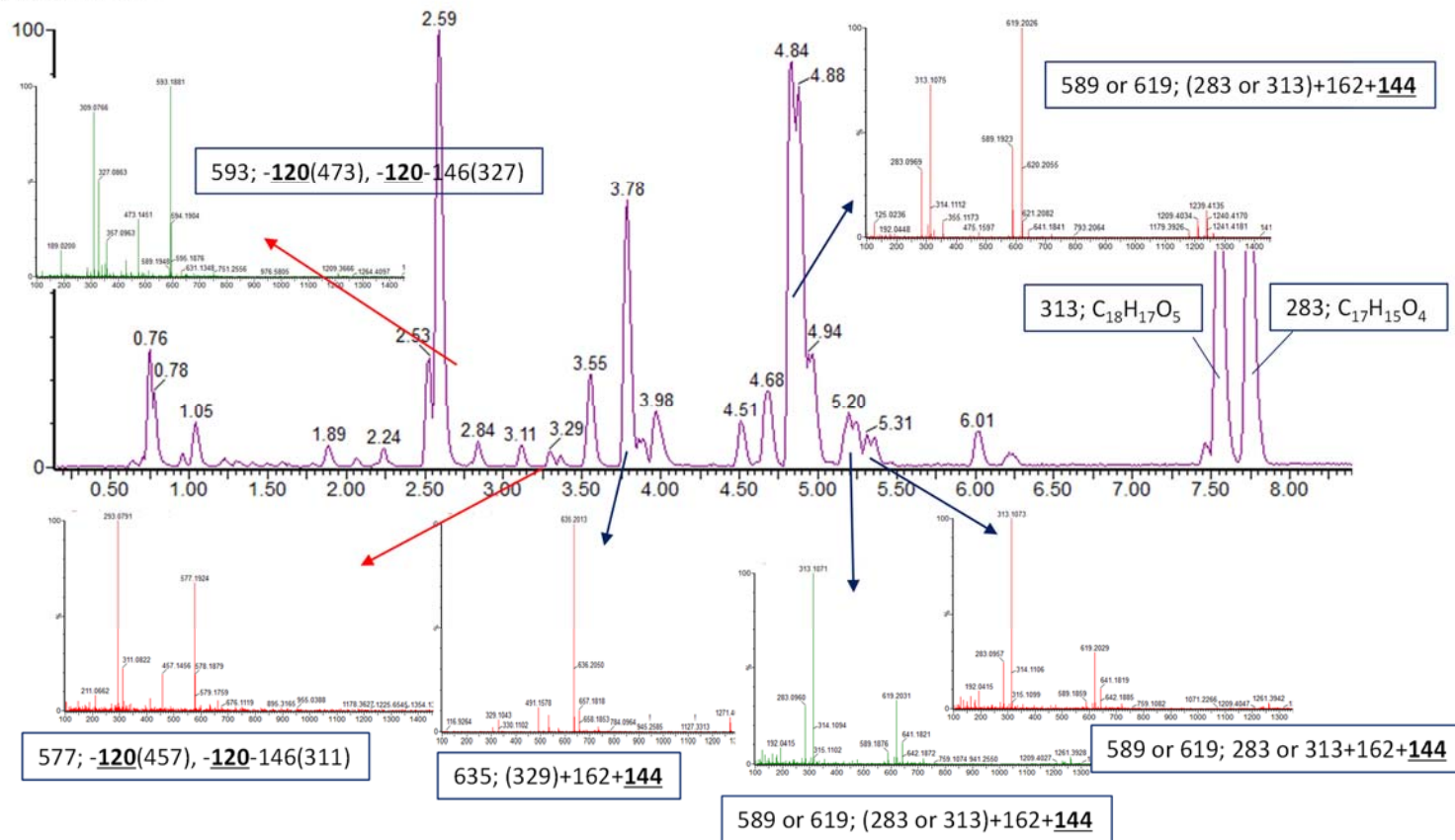


Figure 1. MS chromatogram of *P. orientale* rhizome

1.1.1. 개면마에 대한 문헌 고찰

개면마 (*P. orientale*) (syn. *Matteuccia orientalis*) 는 야산고비과 (onocleaceae)에 속하는 다년생 양치식물로 중국, 일본, 우리나라와 같은 동아시아에 분포하고 있으며, 우리나라 민간에서 이뇨 및 구충작용에 사용해온 것으로 알려져있다. 기존에 분리보고된 화학성분으로는 isocoumarin 계열, phthalide 계열, flavonoid 계열, stilbene 계열 등이 있다. (Kadota et al., 1994, Basnet et al., 1995, Shao et al., 2010) Flavonoid 계열 중에서 flavanone 이 다수 보고되어있으며, flavonoid A-ring의 6, 8 번 위치에 C-methyl 기가 특징적으로 결합된 화합물들이 있다. 또한 식물에서 드물게 분리보고되는 3-hydroxy-3-methylglutaric acid (HMG) 잔기를 가지는 flavonoid 배당체 화합물이 보고되어있다. C-methylated flavonoids 에 대하여 보고된 생리활성으로는 aldose reductase 억제활성, streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats에서의 hypoglycemic 활성과 같이 당뇨에 관련된 연구들과 anti-influenza virus (H1N1) inhibitory 효과에 대한 항바이러스 연구가 있다. (Basnet et al., 1993, Kadota et al., 1994, Basnet et al., 1995, Dao et al., 2010, Li et al., 2015) 또한, gaylussacin, pinosylvic acid 같은 stilbene 의 2번위치에 carboxylic acid 기가 존재하는 화합물들이 보고되어 있으며, 탈탄산 작용에 의해 떨어지지 않고 결합되어 있는 것이 특징적이다.

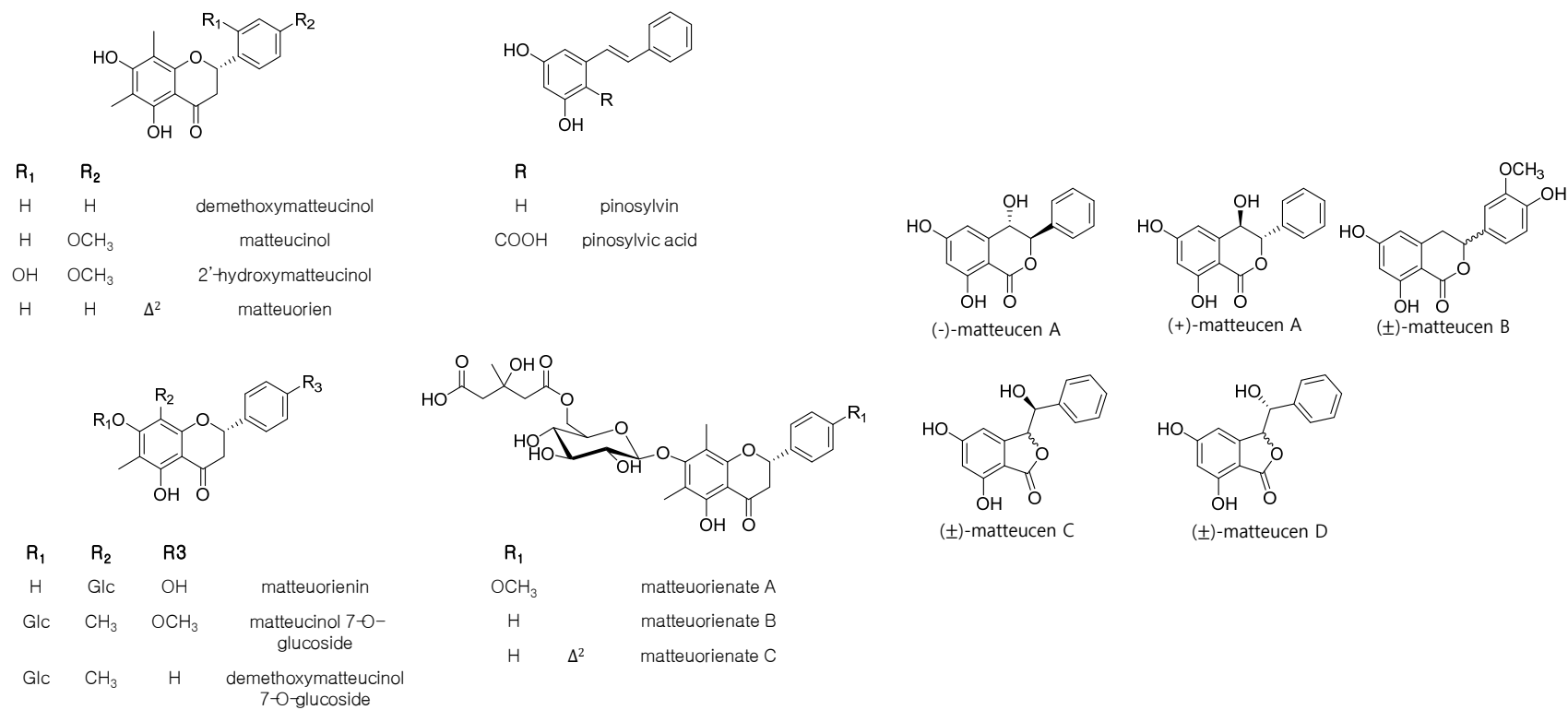


Figure 2. Chemical structures of reported compounds from *P. orientale*

1.1.2. C-Methylated flavonoids

Flavonoid 중에서 aromatic ring에 직접적으로 methyl 기가 연결되어 있는 C-methylated flavonoid는 C-alkylation의 가장 단순한 예로 알려져있다. (Bohm et al., 1998) 소나무과 (Pinaceae) 소나무속 (*Pinus*) 식물들과 양치식물의 하나인 *Lonchitis tisserantii* 에서 6-C-methylchrysin (strobachrysin) 와 *Matteuccia* 속에서 matteucinol, Eucalyptus 속에서 eucalyptin 과 sideroxylin를 시작으로 C-methylated flavonoid에 대하여 분리 보고 되었다. (Voirin et al., 1967, Jiang et al., 1994) *Eucalyptus* 가 속해있는 도금양과 (Myrtaceae)와 진달래과 (Ericaceae)에서 많은 C-methyl flavonoid 가 보고되었으며, 봉의꼬리과 (Pteridaceae), 소나무과 (Pinaceae), 용설란아과 (Agavaceae), 백합과 (Liliaceae), 포포나무과 (Annonaceae), 클루시아과 (Clusiaceae), Didieriaceae에서도 C-methylated flavonoid의 존재가 알려져있다. (Bohm et al., 1998) Wollenweber와 Jay의 연구에 따르면, (Wollenweber and Jay et al., 1988, Wollenweber, 1994) 보통 C-methylated flavonoid 라고 하는 화합물은 flavonoid B-ring의 C-methylation된 화합물을 제외하고 flavonoid A-ring의 6번 또는 8번 수소 위치의 치환 혹은 두 위치 모두 치환된 화합물이 대부분이며, 드물게 C-3가 치환된 물질이 보고 되었다고 기술되어있다. (Figure 3)

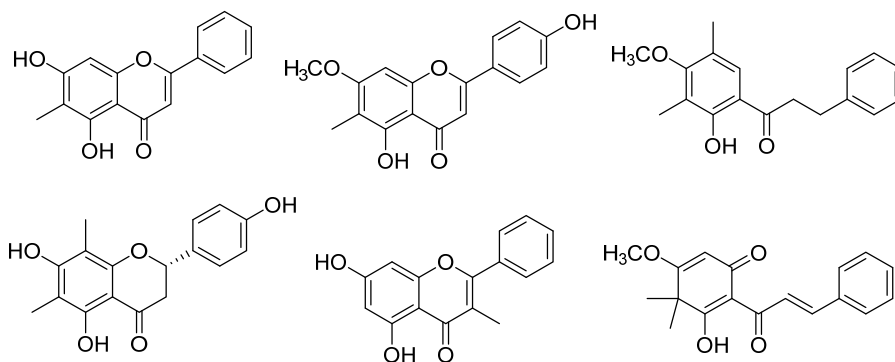


Figure 3. Chemical structures of reported C-methylated flavonoids

이러한 C-methylated flavonoid의 생합성에 대해서 살펴보면,

flavonoid A-ring에서의 alkylation은 생합성과정 중에 쉽게 만들어질 수 있다. Flavonoids의 생합성 경로상에서 cinnamoyl-CoA와 세 분자의 malonyl-CoA가 반응하는 중에, 효소 존재하에서 methylene 탄소들을 만들어 내는데, 이와 근접한 carbonyl기의 영향으로 methylene 탄소들이 활성화되면서 alkylation 되기에 적합한 환경을 구성하고 생성될 수 있으며, 같은 기전하에서 alkylation 뿐만 아니라, C-glycosylation도 일어날 수 있다. (Figure 4, in the box)

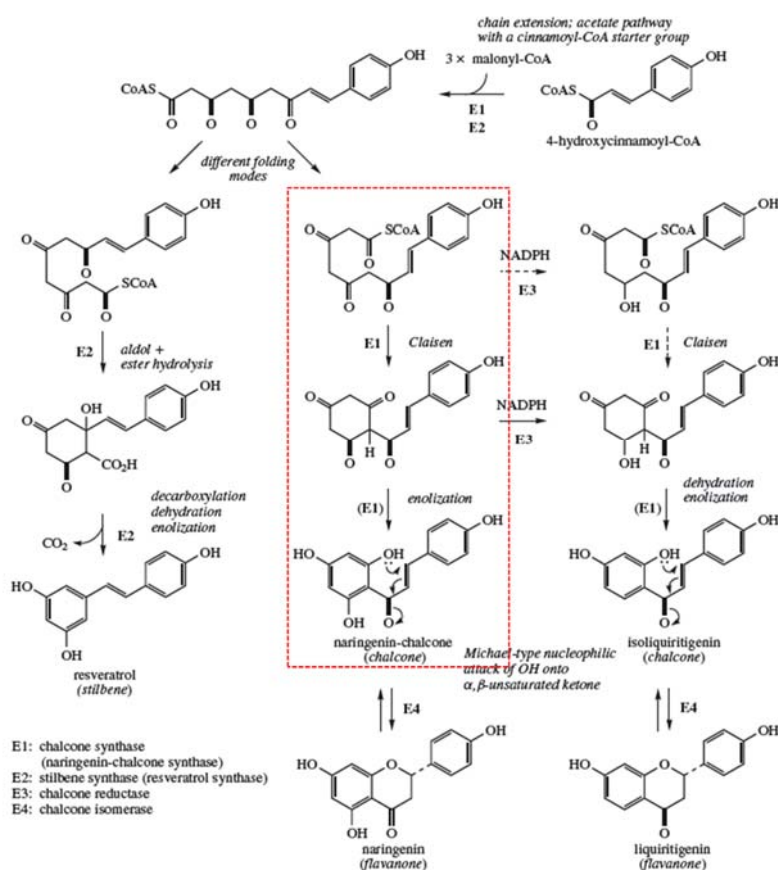


Figure 4. Biosynthesis pathway of flavonoids (Dewick et al., 2009)

최근까지도 C-methylated flavonoid가 계속해서 보고가 되고 있으며, (Sutthivaiyakit et al., 2013, Jia et al., 2014, Massaro et al., 2014 Umeokoli et al., 2016) 현재까지 보고가 된 생리활성으로는 항바이러스

(Dao et al., 2010, Li et al., 2015, Ha et al., 2016), 항세균 (Massaro et al., 2014), 항진균 (Umeokoli et al., 2016), 항염증 (Jia et al., 2014), 항산화(Sutthivaiyakit et al., 2013) 활성 등이 보고되었다.

1.1.3. HMG 유도체 화합물

Hydroxy methylglutaric acid (HMG)는 ‘meglutol’ 이라고도 불리우며, 일반적으로 식물 성분 생합성 중에서 mevalonate pathway의 중간 물질인 HMG-CoA로의 역할이 보다 더 잘 알려져있다. (Dewick et al., 2009) 많지는 않지만, 여러 식물들에서 HMG가 분리 보고되어 있으며, 대부분의 화합물들은 HMG가 배당체의 당과 결합하고 있는 형태를 가지며 드물게 모핵에 직접적으로 결합되어 있는 경우도 있다. (Jung et al., 1993, Sugiyama et al., 1993, Colegate et al., 2012, Porter et al., 2012, Wang et al., 2012, Eom et al., 2016, Thao et al., 2016) HMG 자체가 대칭적인 구조를 가지기 때문에 3번위치의 methyl기와 hydroxy기의 절대구조를 규명하지 않아도 된다. 하지만 양쪽의 carboxyl기 중에서 한 쪽만 치환되는 경우 비대칭성이 발생하기 때문에 입체구조의 규명이 필요하다. 자연적으로 발생하는 HMG ester에서의 3번 위치는 (S)-HMG CoA에서 hydroxy기의 acylation을 통하여 형성되기 때문에 (S)-configuration의 형태를 가지는 것으로 알려져있다. (Berget et al., 1979) 하지만, 화합물에 결합되어있는 하나의 잔기로 존재할 때에는 어떠한 configuration으로 존재하고 있는지에 대해서는 확인이 필요하다. HMG의 3번위치의 절대구조를 규명하기 위해서 일련의 화학반응을 통한 연구들이 진행이 되었으며, 초기 연구에는 환원반응통하여 모핵과 HMG 잔기를 우선적으로 자르는 실험들이 주로 연구되었지만, 환원반응 과정에 있어서 손실이 너무 커서 절대구조를 규명하기 위해서는 너무나 많은 화합물이 필요하였다. (Hirai et al., 1981, Tanaka et al., 1992, Kamo et al., 2003) 그 이후에, Hattori et al., 2007의 논문에서 환원반응에 앞서서 Amidation 반응을

우선시 하여 HMG잔기의 비대칭성을 유지하고 그 뒤에 환원반응을 통해 절대구조를 규명해내는 방법을 고안하여 적은 양으로도 HMG 잔기의 절대구조를 밝힐 수 있는 개선된 방법을 보고하였으며, 최근의 HMG를 포함하는 화합물에서는 Hattori의 논문들을 대부분 참고하여 절대구조를 규명하였다. (Wang et al., 2012, Eom et al., 2016, Thao et al., 2016)

1.2. 연구의 목적

본 연구에서는 특이적인 화학구조를 가지는 물질을 분리하고자 MS 크로마토그램을 활용하여, 개면마의 뿌리줄기로부터 특이적인 MS fragment 값을 나타내는 피크들을 다수 확인하였다. 개면마에서 분리보고된 화합물들을 토대로 측정된 MS 크로마토그램의 profiling 을 수행하고, 그 profiling 된 피크들의 ‘tentative identification’ 을 수행한 결과, (Figure 5) negative ion mode 에서 aglycone 으로 추정되었던 313, 283 의 분자량을 가지는 피크는 matteucinol 과 demethoxymatteucinol 로 추정하였다. 두 화합물의 배당체와 앞서 확인한 특이적인 MS fragment 는 3-hydroxy-3-methylglutaric acid (HMG) 잔기의 것으로 예상하였다. 기보고되어있는 HMG를 포함하는 화합물이 3개 (matteuorientate A-C)였지만, MS 크로마토그램 상에서 MS fragment 값 144를 가지는 피크들을 다수 확인하였다. 이 외에도 flavonoid 배당체뿐만 아니라 stilbene 배당체를 확인 할 수 있었으며, pinosylvic의 배당체와 gajussacin의 존재를 확인하였다.

위에서 확인한 분리보고 되지 않은 HMG를 포함하는 특이적인 flavonoid 배당체들을 분리하고, 그 화합물들의 생리활성을 평가하고자 하였다. 분리한 화합물들은 각종 분광학적 데이터의 활용과 기존에 보고된 문헌을 비교하여 구조해석을 수행하였으며, 주로 분리한 화합물들이 C-methylated flavonoid 이었기 때문에 그 화합물들을 H1N1 인플루엔자 바이러스에 대한 neuraminidase 억제 활성을 평가하였다.

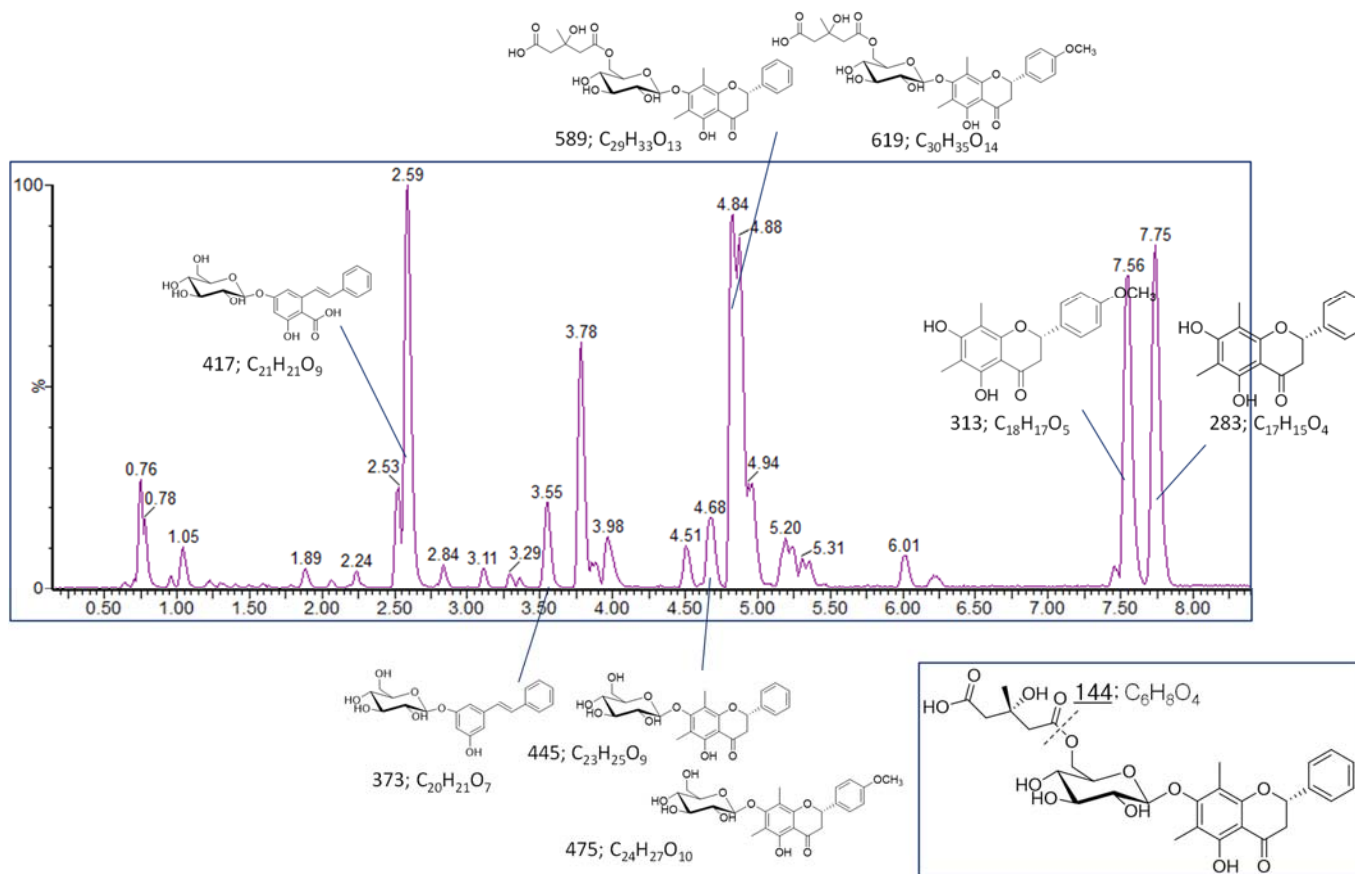


Figure 5. Tentative identification with reported compounds from *P. orientale*

제 2 장 실험 재료와 방법

2.1. 재료

2.1.1. 식물 재료



Figure 6. Aerial parts (left) and rhizomes (right) of *P. orientale*

본 연구에 사용된 개면마 (*Pentarhizidium orientale*)는 2013년 9월에 경상북도 울릉군 북면 나리리 인근에서 채집을 하였으며, 한상일 (서울대학교 약초원) 소장님께서 동정해 주셨다. 현재 이 식물의 표본(SNUPT01)은 서울대학교 생약학연구실에 보관하고 있다.

2.1.2. 시약 및 기기

1) 분석용 시약

컬럼크로마토그래피(Column Chromatography, CC)용 수지(resin)

Kieselgel 60 (40–60 μ m, 230–400 mesh, Merck, Darmstadt, Germany)

Sephadex LH-20 (25–100 μ m, Pharmacia, Piscataway, NJ, USA)

Diaion HP20 (200–300 mesh, Mitsubishi Chemical Co., Japan)

박층 크로마토그래피(Thin Layer Chromatography)용 판

TLC Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck)

TLC Silica gel 60 RP-18 F₂₅₄S (Merck)

발색시약

Anisaldehyde-H₂SO₄

2) 추출용매 및 기타 시약

식물 시료의 추출과 컬럼크로마토그래피용, HPLC용 용매는 대정화 금주식회사에서 구입하였다. 당분석에 사용한 L-cysteine methyl ester hydrochloride 와 *o*-tolyl isothiocyanate 는 Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Japan)에서 구입하였다. 당 표준품과 기타 시약들은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

3) 사용기기

Polarimeter: JASCO P-2000 (JASCO, Easton, MD, USA)

ECD and UV: Chirascan CD spectrometer (Applied Photophysics, Leatherhead, UK)

IR: JASCO FT/IR-4200 spectrometer

NMR: Jeol JMN-LA 300 spectrometer (300 MHz, Japan)

Bruker AVANCE-300 spectrometer (300 MHz, Germany)

Bruker AVANCE-400 spectrometer (400 MHz, Germany)

Bruker AVANCE-500 spectrometer (600 MHz, Germany)

Bruker AVANCE-600 spectrometer (600 MHz, Germany)

Bruker AVANCE-800 spectrometer (800 MHz, Germany)

Bruker AVANCE-850 spectrometer (850 MHz, Germany)

(600, 800, 850 MHz 는 cryogenic probe를 사용함)

HR-ESI-QTOF-MS: Waters Xevo G2 qTOF mass spectrometer (Waters Co., Milford, MA, USA)

MassLynx SCN 855 소프트웨어 (Waters Co.)

Analytical Balance: Mettler Ae 50, Switzerland

Autoclave:

Centrifuge: Eppendorff centrifuge 5810, Germany

Clean Bench:

Drying Oven: CO-2D-1S, Wooju Sci., Republic of Korea

ELISA microplate reader: SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA

HPLC column: YMC-Triart C18 (4.6 × 250 mm, 10.0 × 250 mm, 20.0 × 250 mm 5 μm), YMC Co., Ltd., Japan

Chiralpak-IB (10.0 × 250 mm, 5 μm), Daicel Co. Ltd., Japan

YMC-Pack SIL-06 (10.0 × 250 mm, 5 μm), YMC Co., Ltd., Japan

MPLC: MPLC-Reveleris system, Grace, USA

MPLC column: Reveleris flash cartridges (C18, Silica), Grace, USA

Analytical HPLC system: Dionex P680 equipped with a Dionex UVD340U detector

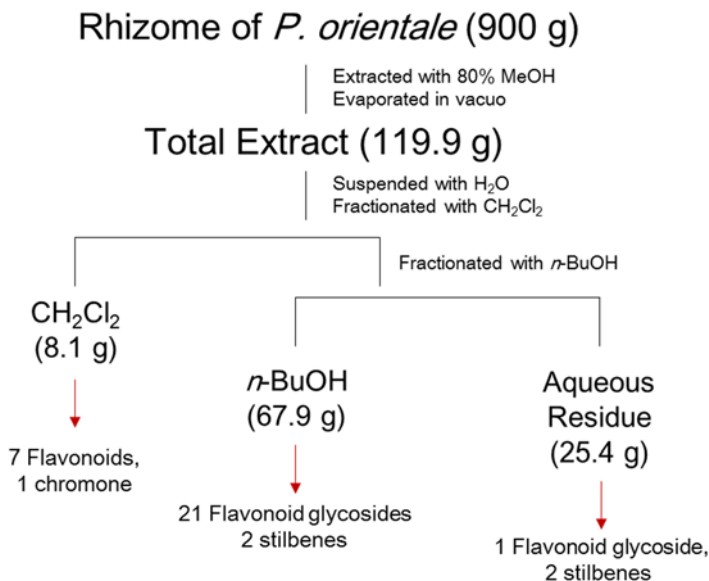
Ultrasonicator: Branson 5210, UK

(Semi)preparative HPLC: Waters Delta Prep 400 system, Waters 2489 UV/Vis detector, Waters, UK

2.2 실험 방법

2.2.1 개면마의 추출 및 분획

건조된 개면마 뿌리줄기 (900.0 g)를 80% MeOH 로 실온에서 90 분씩 3회 추출하였고 감압 농축하여 총 119.9 g 의 추출물을 얻었다. 총 추출물을 증류수로 현탁한 후 이로부터 용매의 극성에 따라 CH₂Cl₂ (8.1 g) 와 *n*-BuOH (67.9 g) 로 분획하여 각각의 분획물을 얻었다. (Scheme 1)



Scheme 1. Extraction and fractionation of *P. orientale* rhizome

2.2.2. 개면마 뿌리줄기로부터 화합물의 분리

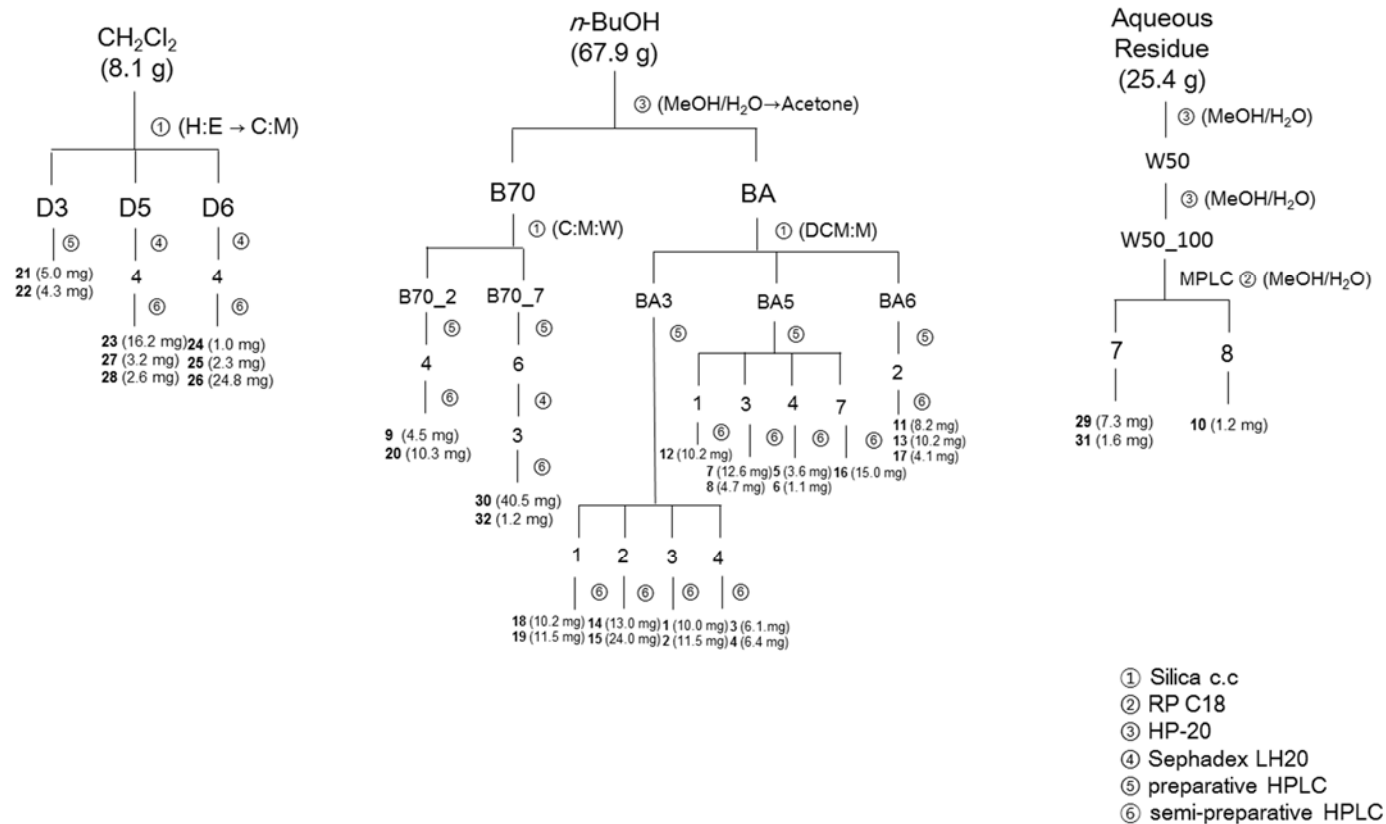
개면마의 CH₂Cl₂ 분획 (8.1 g)을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 *n*-hexane/EtOAc 혼합용매 50:1를 시작으로 1:1로 극성을 높이면서 전개한 후, CHCl₃/MeOH 20:1 로 치환하여 다시 1:1로 극성을 천천히 높이면서 전개하여, 총 14개의 소분획 (D1-D14)을 얻을 수 있었다. 화합물 **21** (5.0 mg) 과 **22** (4.3 mg) 를 소분획 D3 에서 preparative

HPLC 를 acetonitrile-H₂O 을 1:1 조건으로 하여 분리할 수 있었다. Sephadex LH-20 resin 을 CH₂Cl₂-MeOH, 1:1 비율의 용매를 사용하여 소분획 D5 의 분리를 시도하여 4개의 소분획(D51-D54)을 다시 얻었다. 세개의 화합물 **23** (16.2 mg), **27** (3.2 mg), **28** (2.6 mg) 을 소분획 D54 에서 semi-preparative HPLC 45% acetonitrile 조건으로 실험하여 얻었다. 소분획 D6 또한, D5 와 마찬가지로 Sephadex LH-20을 CH₂Cl₂/MeOH 1:1 비율로 용매를 충전하여 총 4개의 소분획을(D61-D64)얻었다. 소분획 D64를 42% acetonitrile 조건으로 semi-preparative HPLC를 이용하여 화합물 **24** (1.0 mg), **25** (2.3 mg), **26** (24.8 mg) 를 얻을 수 있었다.

n-BuOH 분획 (67.9 g) 을 Diaion HP20 resin을 사용하여 MeOH/H₂O 용매조건으로 0, 30, 70, 100% MeOH 비율로 단계적으로 전개한 후, 100% acetone 으로 컬럼을 씻어내어 총 5개의 소분획 (B0, B30, B70, B100, BA)을 얻었다. BA 분획을 CH₂Cl₂/MeOH을 전개용매로 하여 15:1 비율에서 1:1 비율까지 단계적으로 극성을 높여가면서 실험을 하여 7개의 소분획(BA1-BA7)을 얻었다. BA3, BA5, BA6을 preparative HPLC를 동일한 30% acetonitrile 조건으로 실험을 진행하여 각각 5개(BA31-BA35), 7개(BA51-BA57), 3개(BA61-BA63)의 소분획을 얻었다. 화합물 **1** (10.0 mg) 과 **2** (11.5 mg) 는 소분획 BA33을 semi-preparative HPLC 를 50% EtOH 조건으로 나누어지는 피크를 받아 분리하였다. BA33과 똑같은 HPLC 용매조건을 사용하여 BA31, BA32, BA34을 마찬가지로 분리를 하여 화합물 **18** (3.1 mg), **19** (3.7 mg), **14** (13.0 mg), **15** (24.0 mg), **3** (6.1 mg), **4** (6.4 mg)를 얻었다. 화합물 **12** (10.2 mg)는 소분획 BA51에서 30% acetonitrile 조건으로 semi-preparative HPLC를 사용하여 분리하였으며, 소분획 BA53 또한, semi-preparative HPLC를 3:7 비율의 acetonitrile/H₂O 의 용매 조건으로 화합물 **7** (12.6 mg) 과 **8** (4.7 mg)을 얻었다. 화합물 **5** (3.6 mg) 와 **6** (1.1 mg)은 소분획 BA54 를 semi-preparative HPLC 를 사용, 29% acetonitrile 용매조건을 이용하여 분리하였다. Sephadex

LH-20을 이용한 소분획 BA57의 분리는 100% MeOH의 조건으로 화합물 **16** (15.0 mg)를 얻었다. 화합물 **17** (4.1 mg), **11** (8.2 mg), **13** (10.2 mg)는 소분획 BA62 에서 분리를 하였으며, preparative HPLC 27% acetonitrile 조건을 이용하였다. HP resin을 사용하여 얻었던 B70 분획은 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 CHCl₃/MeOH/H₂O, 3상용매계의 조건을 25:4:1로 전개를 시작하여 최종적으로 5:4:1의 조건으로 마무리하여 8개의 소분획(B70_1-B70_8)으로 나누었다. 그 중에서, 소분획 B70_2을 preparative HPLC를 사용한 acetonitrile-H₂O 3:7 조건으로 5개의 소분획(B70_21-25)으로 나누었다. 두개의 화합물 **9** (4.6 mg)와 **20** (10.3 mg)는 소분획 B70_24에서 분리를 하였으며, semi-preparative HPLC 를 이용하였다. (20% acetonitrile 조건) 소분획 B70_7을 preparative HPLC 를 이용하여 6개(B70_71-76)로 나눈 후, 그 중에서 6번째인 B70_76을 70% MeOH을 용매조건으로 하는 Sephadex LH-20 resin을 사용하여 5개의 소분획(70_761-765)으로 나누었다. 화합물 **30** (40.5 mg)과 **32** (1.2 mg)는 소분획 70_763 에서 semi-preparative HPLC 를 사용하여 30% acetonitrile 조건으로 분리를 하였다.

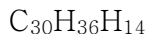
물층(25.4 g)은 *n*-BuOH 분획과 마찬가지로 Diaion HP20 resin을 활용하여 MeOH/H₂O 용매조건으로 0, 50, 100% MeOH, 세개의 분획(W0, W50, W100)으로 나누었다. 분획 W50을 다시 Diaion HP20 resin 을 통하여 MeOH/H₂O 용매조건(0, 25, 100% MeOH)으로 세개의 소분획(W50_0, W50_25, W50_100)으로 나누었다. 소분획 W50_100은 MPLC를 활용해 RP C18 resin 컬럼을 MeOH/H₂O, 10% 에서 100% MeOH 조건으로 전개하여 10개의 소분획 (W50_100_1-W50_100_10)을 얻었다. 그 중에서 화합물 **10** (1.2 mg)은 소분획 W50_100_8로부터, 화합물 **29** (7.3 mg)와 **31** (1.6 mg)은 소분획 W50_100_7로부터 각각 preparative HPLC를 25% acetonitrile 조건으로 분리하였다.



Scheme 2. Isolation scheme of compounds from *P. orientale* rhizomes

Matteuorientate D (1)

노란색 무정형 분말



$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} -20.1 \text{ (c 0.1, MeOH)}$$

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 252 (3.31), 282 (3.62), 349 (3.18) nm

CD (MeOH) λ_{max} 214 (9.05), 287 (−5.55), 349 (0.98)

IR ν_{max} 3393, 2897, 1730 cm^{-1}

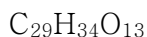
HRESIMS m/z 619.2025 $[\text{M} - \text{H}]^{-}$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_{14}$, 619.2027)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 2

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 2

Matteuorientate E (2)

노란색 무정형 분말



$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} -29.0 \text{ (c 0.1, MeOH)}$$

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 250 (3.26), 282 (3.64), 350 (3.14) nm

CD (MeOH) λ_{max} 216 (5.38), 285 (−4.23), 351 (0.79)

IR ν_{max} 3336, 2853, 1730, 1715 cm^{-1}

HRESIMS m/z 589.1929 $[\text{M} - \text{H}]^{-}$ (calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{O}_{13}$, 589.1921)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 2

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 2

Matteuorientate F (3)

노란색 무정형 분말



$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} -5.1 \text{ (c 0.1, MeOH)}$$

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 252 (3.26), 282 (3.54), 351 (3.10) nm

CD (MeOH) λ_{max} 214 (7.21), 288 (−3.51), 349 (0.98)

IR ν_{max} 3335, 2928, 1722, 1715 cm^{-1}

HRESIMS m/z 619.2032 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{35}O_{14}$, 619.2027)

1H (600 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 2

^{13}C NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 2

Matteuorientate G (4)

노란색 무정형 분말

$C_{29}H_{34}O_{13}$

$[\alpha]_D^{20}$ -16.6 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 250 (3.26), 282 (3.64), 350 (3.14) nm

CD (MeOH) λ max 216 (6.08), 285 (-3.40) and 350 (0.79)

IR ν max 3384, 2882, 1730, and 1716 cm^{-1}

HRESIMS m/z 589.1923 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{29}H_{33}O_{13}$, 589.1921)

1H (600 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 2

^{13}C NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 2

Matteuorientate H (5)

노란색 무정형 분말

$C_{30}H_{36}O_{15}$

$[\alpha]_D^{20}$ -26.5 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 252 (3.05), 283 (3.39), 362 (2.91) nm

CD (MeOH) λ max 217 (5.84), 289 (-5.18), 352 (1.28)

IR ν max 3420, 2853, 1730, 1715 cm^{-1}

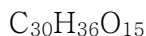
HRESIMS m/z 635.1974 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{35}O_{15}$, 635.1976)

1H (600 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 3

^{13}C NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 3

Matteuorientate I (6)

노란색 무정형 분말



$[\alpha]_{\text{D}}^{20} -10.4$ (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 250 (3.34), 284 (3.77), 350 (3.26) nm

CD (MeOH) λ_{max} 229 (−1.74), 288 (0.91), 361 (−0.06)

IR ν_{max} 3446, 2853, 1730, 1715 cm^{-1}

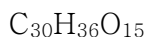
HRESIMS m/z 635.1974 $[\text{M} - \text{H}]^{-}$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_{15}$, 635.1976)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 3

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 3

Matteuorientate J (7)

노란색 무정형 분말



$[\alpha]_{\text{D}}^{20} -42.0$ (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 252 (3.20), 286 (3.55), 350 (3.07) nm

CD (MeOH) λ_{max} 219 (2.55), 288 (−5.32), 351 (0.38)

IR ν_{max} 3446, 2853, 1730, 1715 cm^{-1}

HRESIMS m/z 635.1985 $[\text{M} - \text{H}]^{-}$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_{15}$, 635.1976)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 3

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 3

Matteuorientate K (8)

노란색 무정형 분말

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} 4.0$ (c 0.1, MeOH)



UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 254 (2.94), 285 (3.23), 350 (2.75) nm

CD (MeOH) λ_{max} 226 (2.48), 279 (−2.13), 350 (0.31)

IR ν_{max} 3446, 2853, 1731, 1715 cm^{-1}

HRESIMS m/z 605.1862 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{29}H_{33}O_{14}$, 605.1870)

1H (600 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 3

^{13}C NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 3

Matteucin 7-O- β -D-glucoside (**9**)

노란색 무정형 분말

$C_{23}H_{26}O_{10}$

$[\alpha]_D^{20}$ 4.0 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 248 (3.78), 283 (4.34), 361 (3.76) nm

CD (MeOH) λ max 230 (−0.93), 283 (0.62), 305 (0.33)

IR ν max 3274, 2603, 1730, 1715 cm^{-1}

HRESIMS m/z 461.1446 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{23}H_{25}O_{10}$, 461.1448)

1H (850 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 4

^{13}C NMR (213 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 4

Matteuorien 7-O- β -D-glucoside (**10**)

노란색 무정형 분말

$C_{23}H_{34}O_9$

$[\alpha]_D^{20}$ 27.5 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 247 (3.97), 280 (4.41), 349 (3.74) nm

IR ν max 3337, 2927, 1758, 1670, 1640, 1607, 1186 cm^{-1}

HRESIMS m/z 443.1337 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{23}H_{33}O_9$, 443.1342)

1H (500 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 4

^{13}C NMR (125 MHz, $DMSO-d_6$): See the Table 4

Matteuorienin B (**11**)

노란색 무정형 분말

$C_{28}H_{34}O_{13}$

$[\alpha]_D^{20}$ 24.6 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 257 (3.84), 291 (4.25), 332 (3.83) nm
CD (MeOH) λ_{\max} 222 (9.3), 288 (−5.06), 331 (1.08)
IR ν_{\max} 3392, 2927, 1729, 1516 cm^{-1}
HRESIMS m/z 577.1920 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{13}$, 577.1921)
 ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 4
 ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 4

Matteuorienin C (**12**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 24.5 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 258 (3.91), 291 (4.17), 331 (3.83) nm
CD (MeOH) λ_{\max} 218 (6.7), 290 (−2.95), 335 (0.99)
IR ν_{\max} 3397, 2930, 1729, 1519 cm^{-1}
HRESIMS m/z 593.1874 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{14}$, 593.1870)
 ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 4
 ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 4

Matteuorienin D (**13**)

노란색 무정형 분말

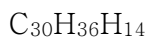
$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{14}$

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 41.8 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 256 (3.83), 291 (4.25), 331 (3.79) nm
CD (MeOH) λ_{\max} 218 (10.6), 289 (−5.03), 335 (1.69)
IR ν_{\max} 3397, 2930, 1730, 1518 cm^{-1}
HRESIMS m/z 607.2030 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{O}_{14}$, 607.2027)
 ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 4
 ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 4

Matteuorientate A (**14**)

노란 무정형 분말



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 6.6 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 249 (3.43), 281 (4.09), 356 (3.52) nm

CD (MeOH) λ_{max} 249 (1.49), 286 (−7.61), 355 (2.10)

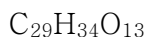
HRESIMS m/z 619.2029 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_{14}$, 619.2027)

^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 5

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 5

Matteuorientate B (**15**)

노란 무정형 분말



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 10.1 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 253 (3.11), 292 (4.06), 336 (3.48) nm

CD (MeOH) λ_{max} 242 (2.35), 288 (−6.62), 330 (2.99)

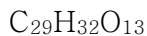
HRESIMS m/z 589.1926 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{O}_{13}$, 589.1921)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 5

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 5

Matteuorientate C (**16**)

노란색 무정형 분말



$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 47.9 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 218 (4.27), 256 (3.30), 283 (3.95), 361 (3.20) nm

HRESIMS m/z 587.1769 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{O}_{13}$, 587.1765)

^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 5

^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 5

Matteuorienin (**17**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$

$[\alpha]_D^{20}$ -4.5 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 259 (3.26), 293 (3.68), 340 (3.40) nm

HRESIMS m/z 447.1276 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{O}_{10}$, 447.1291)

^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 6

^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 6

Demethoxymatteucinol 7-*O*- β -D-glucoside (**18**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_9$

$[\alpha]_D^{20}$ 25.9 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 250 (3.40), 281 (3.90), 359 (3.34) nm

CD (MeOH) λ_{max} 250 (1.46), 287 (-7.07), 354 (1.69)

HRESIMS m/z 445.1502 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_9$, 445.1499)

^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 6

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 6

Matteucinol 7-*O*- β -D-glucoside (**19**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$

$[\alpha]_D^{20}$ 13.8 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 249 (2.88), 285 (3.29), 366 (2.80) nm

CD (MeOH) λ_{max} 245 (0.26), 285 (-1.13), 353 (0.35)

HRESIMS m/z 475.1609 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{O}_{10}$, 475.1604)

^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 6

^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 6

Myrciacitrin II (**20**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$

$[\alpha]_D^{20}$ 14.4 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 2.48 (3.26), 286 (4.11), 330 (3.28) nm

HRESIMS m/z 491.1553 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{O}_{11}$, 491.1553)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 6

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 6

Demethoxymatteucinol (**21**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4$

$[\alpha]_D^{20}$ -12.9 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 254 (2.76), 296 (3.82), 326 (3.22) nm

CD (MeOH) λ_{max} 250 (0.15), 291 (-11.95), 343 (1.62)

HRESIMS m/z 283.0973 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{O}_4$, 283.0970)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 7

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 7

Matteucinol (**22**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_5$

$[\alpha]_D^{20}$ -21.4 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 256 (3.52), 296 (4.12), 344 (3.76) nm

CD (MeOH) λ_{max} 250 (2.20), 292 (-20.2), 336 (2.63)

HRESIMS m/z 313.1081 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_5$, 313.1076)

^1H (800 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 7

^{13}C NMR (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 7

Matteucin (**23**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$

$[\alpha]_D^{20}$ -169.3 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 250 (3.21), 295 (4.31), 344 (3.66) nm

CD (MeOH) λ_{max} 249 (0.21), 291 (-37.4), 335 (4.10)

HRESIMS m/z 299.0912 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{O}_5$, 299.0919)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 7

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 7

Farrerol (**24**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$

$[\alpha]_D^{20}$ -9.7 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 254 (3.18), 296 (4.08), 344 (3.52) nm

CD (MeOH) λ_{max} 251 (0.81), 292 (-6.37), 354 (0.80)

HRESIMS m/z 299.0925 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{O}_5$, 299.0919)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 7

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 7

Methoxymatteucin (**25**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6$

$[\alpha]_D^{20}$ -55.7 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 251 (3.34), 295 (4.05) 338 (3.47) nm

CD (MeOH) λ_{max}

HRESIMS m/z 329.1025 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_6$, 329.1025)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 8

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 8

3'-hydroxy 5'-methoxy 6,8-dimethyl huazhongilexone (**26**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6$

$[\alpha]_D^{20}$ -98.6 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 252 (2.76), 296 (4.05), 342 (3.38) nm

CD (MeOH) λ_{max} 249 (-0.16), 291 (-14.39), 354 (1.36)

HRESIMS m/z 329.1027 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_6$, 329.1025)

^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 8

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 8

Naringenin (**27**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$

$[\alpha]_D^{20}$ -10.8 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 251 (3.04), 289 (4.17) nm

HRESIMS m/z 271.0610 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_5$, 271.0606)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 8

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 8

Leptorumol (**28**)

노란색 무정형 분말

$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4$

$[\alpha]_D^{20}$ -7.8 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 241 (3.65), 264 (3.95), 300 (3.58) nm

HRESIMS m/z 205.0497 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}_4$, 205.0501)

^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 8

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): See the Table 8

Pinosylvin 3-O- β -D-glucoside (**29**)

흰색 무정형 분말

C₂₀H₂₂O₇

$[\alpha]_D^{20}$ -21.7 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 253 (3.59), 298 (4.05) nm

HRESIMS m/z 373.1295 [M - H]⁻ (calcd for C₂₀H₂₁O₇, 373.1287)

¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): See the Table 9

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): See the Table 9

Gaylussacin (**30**)

흰색 무정형 분말

C₂₁H₂₂O₉

$[\alpha]_D^{20}$ -130.9 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 249 (4.46), 299 (4.41) nm

HRESIMS m/z 417.1189 [M - H]⁻ (calcd for C₂₁H₂₁O₉, 417.1186)

¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): See the Table 9

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): See the Table 9

Resveratrollic acid (**31**)

흰색 무정형 분말

C₁₅H₁₂O₅

$[\alpha]_D^{20}$ 21.1 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 255 (4.27), 273 (4.19), 294 (4.28) nm

HRESIMS m/z 271.0603 [M - H]⁻ (calcd for C₁₅H₁₁O₅, 271.0606)

¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.48 (1H, d, *J* = 16.3 Hz, H- α), 7.29 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2'/6'), 6.74 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3'/5'), 6.60 (1H, d, *J* = 16.3 Hz, H- β), 6.28 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-6), 5.94 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4)

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 172.4 ($-\underline{\text{C}}\text{OOH}$), 166.4 (C-3), 158.7 (C-5), 156.8 (C-4'), 141.6 (C-1), 129.4 (C-1'), 128.9 (C- α), 127.5 (C-2'/6'), 126.5 (C- β), 115.4 (C-3'/5'), 110.1 (C-2), 102.3 (C-6), 101.7 (C-4)

Resveratrollic acid 5-O- β -D-glucoside (**32**)

흰색 무정형 분말

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$

$[\alpha]_D^{20}$ -53.1 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 251 (4.28), 273 (4.05), 309 (4.30) nm

HRESIMS m/z 433.1142 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_{10}$, 433.1135)

^1H (850 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8.55 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H- α), 7.30 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2'/6'), 6.75 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3'/5'), 6.74 (1H, d, $J = 16.7$ Hz, H- β), 6.54 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-6), 6.19 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-4), 4.82 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 3.71 (1H, dd, $J = 11.8, 1.8$ Hz, H-6''a), 3.47 (1H, dd, $J = 11.9, 5.9$ Hz, H-6''b), 3.32 (1H, m, H-5''), 3.27 (1H, t, $J = 8.9$ Hz, H-3''), 3.20 (1H, m, H-2''), 3.14 (1H, m, H-4'')

^{13}C NMR (213 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 171.8 ($-\underline{\text{C}}\text{OOH}$), 166.4 (C-5), 158.7 (C-3), 156.8 (C-4'), 141.3 (C-1), 129.4 (C-1'), 128.2 (C- α), 127.6 (C-2'/6'), 127.2 (C- β), 115.4 (C-3'/5'), 112.2 (C-2), 102.5 (C-6), 102.3 (C-4), 100.1 (C-1''), 77.1 (C-3''), 76.6 (C-2''), 73.3 (C-5''), 69.8 (C-4''), 60.7 (C-6'')

Table 2. ¹H and ¹³C NMR data of compounds 1-4

position	1		2		3		4	
	δ_{C} , type/ δ_{H} , (J in Hz)							
2	77.9, CH	5.57 dd (12.5, 2.9)	78.0, CH	5.65 dd (12.5, 3.0)	77.9, CH	5.57 dd (12.5, 3.0)	78.0, CH	5.65 dd (12.5, 3.0)
3	42.7, CH ₂	2.86 dd (17.1, 3.0)	42.3, CH ₂	2.92 dd (17.1, 3.1)	42.2, CH ₂	2.86 dd (17.1, 3.1)	42.3, CH ₂	2.93 dd (17.1, 3.1)
		3.33 m		3.34 m		3.34 m		3.33 m
4	198.5, C		198.2, C		198.5, C		198.3, C	
5	157.9, C		157.9, C		157.8, C		157.8, C	
6	111.7, C		111.3, C		111.3, C		111.4, C	
7	161.2, C		161.2, C		161.1, C		161.1, C	
8	110.6, C		110.2, C		110.2, C		110.2, C	
9	157.2, C		157.1, C		157.2, C		157.1, C	
10	104.9, C		104.9, C		104.9, C		104.9, C	
1'	130.8, C		138.9, C		130.8, C		138.9, C	
2'	128.0, CH	7.46 d (8.7)	126.3, CH	7.53 d (7.3)	128.6, CH	7.46 d (8.7)	126.3, CH	7.54 d (7.3)
3'	114.0, CH	6.99 d (8.8)	128.6, CH	7.44 dd (7.3, 7.3)	114.0, CH	6.99 d (8.8)	128.6, CH	7.44 dd (7.3, 7.3)

4'	159.4, C		128.4, CH	7.38 t (7.3)	159.4, C		128.4, CH	7.38 t (7.3)
5'	114.0, CH	6.99 d (8.8)	128.6, CH	7.44 dd (7.3, 7.3)	114.0, CH	6.99 d (8.8)	128.6, CH	7.44 dd (7.3, 7.3)
6'	128.0, CH	7.46 d (8.7)	126.3, CH	7.53 d (7.3)	128.6, CH	7.46 d (8.7)	126.3, CH	7.54 d (7.3)
1''	103.9, CH	4.68 d (7.7)	103.9, CH	4.69 d (7.7)	103.7, CH	4.73 d (7.7)	103.7, CH	4.74 d (7.7)
2''	74.1, CH	3.44 m	74.1, CH	3.45 m	72.0, CH	3.46 m	72.0, CH	3.47 m
3''	73.5, CH	3.52 t (9.2)	73.5, CH	3.52 m	77.4, CH	4.84 t (9.4)	77.4, CH	4.84 t (9.4)
4''	71.3, CH	4.60 t (9.5)	71.3, CH	4.60 t (9.5)	67.6, CH	3.33 m	67.6, CH	3.34 m
5''	74.4, CH	3.37 m	74.4, CH	3.38 m	76.6, CH	3.20 m	76.6, CH	3.21 m
6''	60.8, CH ₂	3.33 m	60.8, CH ₂	3.33 m	60.7, CH ₂	3.43 m	60.7, CH ₂	3.44 m
		3.46 m		3.46 m		3.62 m		3.62 m
1'''	169.9, C		169.9, C		170.1, C		170.1, C	
2'''	45.9, CH ₂	2.62 d (13.8) overlap	45.9, CH ₂	2.62 d (13.8) overlap	46.6, CH ₂	2.65 d (13.3) overlap	46.7, CH ₂	2.65 d (13.3) overlap
3'''	69.2, C		69.2, C		69.3, C		69.3, C	
4'''	45.9, CH ₂	2.42 s	45.9, CH ₂	2.42 s	45.6, CH ₂	2.38 d (14.8) 2.31 d (14.8)	45.6, CH ₂	2.36 d (15.3) 2.29 d (14.8)

5'''	173.0, C		173.0, C		173.8, C		173.9, C	
6'''	27.3, CH ₃	1.27 s	27.3, CH ₃	1.27 s	27.8, CH ₃	1.27 s	27.9, CH ₃	1.27 s
CH ₃ -6	8.7, CH ₃	2.09 s	8.7, CH ₃	2.10 s	8.7, CH ₃	2.08 s	8.7, CH ₃	2.09 s
CH ₃ -8	9.3, CH ₃	2.07 s	9.3, CH ₃	2.10 s	9.3, CH ₃	2.06 s	9.3, CH ₃	2.09 s
OCH ₃ -4'	55.2, CH ₃	3.77 s			55.2, CH ₃	3.77 s		

Recorded at 600/150 MHz, DMSO-*d*₆

Table 3. ¹H and ¹³C NMR data of compounds 5-8

position	5		6		7		8	
	δ_{C} , type/ δ_{H} , (J in Hz)							
2	73.6, CH	5.63 dd (13.3, 2.8)	73.4, CH	5.69 dd (13.8, 2.4)	74.0, CH	5.69 dd (13.1, 2.8)	74.2, CH	5.74 dd (13.1, 2.7)
3		2.73 dd (17.0, 2.8)		2.67 dd (17.2, 2.4)		2.81 dd (17.0, 2.8)		2.80 dd (17.1, 2.8)
	41.5, CH ₂		41.0, CH ₂		41.3, CH ₂		41.3, CH ₂	
		3.28 m		3.39 overlap		3.25 m		3.29 m
4	198.9, C		199.4, C		198.6, C		198.8, C	
5	157.9, C		158.0, C		157.9 ^a , C		157.8, C	
6	111.0, C		110.5, C		110.0 ^b , C		111.0, C	
7	161.1, C		161.1, C		161.1, C		161.1, C	
8	110.1, C		110.7, C		111.2 ^b , C		110.0, C	
9	157.8, C		158.0, C		157.6 ^a , C		157.8, C	
10	104.8, C		104.8, C		104.8, C		104.8, C	
1'	117.4, C		117.3, C		125.7, C		124.9, C	
2'	155.7, C		157.2, C		148.1, C		155.0, C	
3'	101.3, CH	6.46 br s	101.7, CH	6.50 d (2.5)	116.3, CH	6.82 d (8.8)	115.8, CH	6.91 d (8.1)
4'	160.3, C		160.5, C		114.3, CH	6.79 dd	129.3, CH	7.18 m

					(9.0, 2.8)			
5'	104.8, CH	6.47 m	104.1, CH	6.41 dd (8.5, 2.5)	152.1, C		118.8, CH	6.85 t (7.5)
6'	127.9, CH	7.36 d (8.2)	127.9, CH	7.32 d (8.6)	112.2, CH	7.03 d (2.9)	126.9, CH	7.44 d (8.6)
1''	104.0, CH	4.62 d (7.6)	104.0, CH	4.62 d (7.7)	104.0, CH	4.63 d (7.7)	104.0, CH	4.60 d (7.7)
2''	73.9, CH	3.29 m	73.9, CH	3.29 m	74.0, CH	3.32 m	74.0, CH	3.28 m
3''	76.0, CH	3.26 m	75.9, CH	3.24 m	76.1, CH	3.25 m	76.1, CH	3.24 m
4''	69.8, CH	3.19 m	70.2, CH	3.15 m	69.8, CH	3.20 m	70.0, CH	3.18 m
5''	73.6, CH	3.30 m	73.6, CH	3.30 m	73.6, CH	3.31 m	73.7, CH	3.31 m
6''		4.04 dd		3.96 dd		4.02 dd		3.96 dd
	63.1, CH ₂	(11.8, 6.0)	63.1, CH ₂	(11.8, 7.0)	63.0, CH ₂	(11.8, 6.0)	63.0, CH ₂	(11.7, 6.5)
		4.20 d (11.5)		4.21 d (11.6)		4.22 d (10.2)		4.23 m
1'''	170.3, C		170.4, C		170.4, C		170.5, C	
2'''	45.4, CH ₂	2.61 d (14.1) 2.47 d (14.1)	46.3, CH ₂	2.28 d (13.5) 2.23 d (13.6)	45.9, CH ₂	overlap 2.41 d (13.8)	46.5, CH ₂	2.32 s
3'''	68.9, C		68.9, C		68.9, C		68.9, C	

4'''	45.5, CH ₂	2.45 d (2.4)	47.5, CH ₂	2.12 d (14.7) 2.00 m	48.6, CH ₂	2.35 d (14.8) 2.29 d (14.8)	47.0, CH ₂	2.16 d (15.0) 2.03 m
5'''	172.4, C		175.5, C		173.6, C		175.4, C	
6'''	27.2, CH ₃	1.18 s	27.9, CH ₃	1.04 s	27.3, CH ₃	1.14 s	27.7, CH ₃	1.05 s
CH ₃ -6	8.7, CH ₃	2.05 s	8.5, CH ₃	2.12 s	8.7, CH ₃	2.05 s	8.6, CH ₃	2.05 s
CH ₃ -8	9.2, CH ₃	2.00 s	9.2, CH ₃	2.00 s	9.1, CH ₃	2.05 s	9.1, CH ₃	2.03 s
OCH ₃ -4'	55.1, CH ₃	3.71 s	55.0, CH ₃	3.71 s	55.4, CH ₃	3.69 s		

Recorded at 600/150 MHz, DMSO-*d*₆

Table 4. ¹H and ¹³C NMR data of Compounds 9-13

position	9 ^a		10 ^b		11 ^c		12 ^c		13 ^c	
	δ _C , type/δ _H , (<i>J</i> in Hz)									
2	73.9, CH	5.72 dd (13.0, 2.9)	163.6, C		78.4, CH	5.53 dd (14.1, 2.1)	78.6, CH	5.37 dd (14.2, 2.3)	78.3, CH	5.45, dd (14.1, 2.2)
3	41.4, CH ₂	2.83 dd (17.1, 3.0) 3.23 m	105.2, CH	7.10 s	42.7, CH ₂	2.68 dd (2.4, 16.9) 3.22 dd (14.3, 16.8)	42.5, CH ₂	2.56 dd (2.4, 16.9) 3.25 m	42.6, CH ₂	2.60, dd (16.7, 2.3) 3.27, m
4	198.6, C		182.9, C		196.9, C		197.4, C		197.2, C	
5	157.9, C		155.9, C		160.7, C		160.7, C		160.7, C	
6	111.1, C		114.7, C		104.3, C		104.2, C		104.2, C	
7	161.4, C		159.2, C		162.5, C		162.4, C		162.4, C	
8	110.1, C		110.3, C		103.4, C		103.3, C		103.4, C	
9	157.6, C		152.2, C		157.3, C		157.7, C		157.5, C	
10	104.2, C		107.0, C		101.7, C		101.7, C		101.7, C	
1'	125.0, C		130.9, C		139.2, C		129.2, C		131.0, C	
2'	154.5, C		126.5, CH	8.12 dd (1.6, 8.1)	128.6, CH	7.56 d (7.4)	128.2, CH	7.36 d(8.6)	128.0, CH	7.49 d(8.7)

3'	115.5, CH	6.91 d (8.1)	129.3, CH	7.62 m	126.2, CH	7.45 dd (7.5, 7.5)	115.3, CH	6.81 d(8.6)	114.0, CH	7.00 d(8.7)
4'	129.2, CH	6.87 t (7.4)	132.2, CH	7.62 m	128.3, CH	7.39 t (7.3)	157.7, C		159.3, C	
5'	119.0, CH	7.19 t (7.8)	129.3, CH	7.62 m	126.2, CH	7.45 dd (7.5, 7.5)	115.3, CH	6.81 d(8.6)	114.0, CH	7.00 d(8.7)
6'	126.6, CH	7.46 d (7.7)	126.5, CH	8.12 dd (1.6, 8.1)	128.6, CH	7.56 d (7.4)	128.2, CH	7.36 d(8.6)	128.0, CH	7.49 d(8.7)
1''	104.7, CH	4.59 d (7.7)	104.6, CH	4.66 d (7.7)	72.9, CH	4.70 d (9.8)	72.8, CH	4.64 d(9.8)	72.8, CH	4.65 d(9.8)
2''	76.3, CH	3.23 m	76.4, CH	3.26 m	75.5, CH	3.64 m	75.6, CH	3.61 m	75.6, CH	3.63 m
3''	77.1, CH	3.05 m	77.1, CH	3.06 m	78.9, CH	3.39 m	78.8, CH	3.38 m	78.8, CH	3.38 m
4''	69.8, CH	3.13 t (9.2)	69.8, CH	3.16 m	68.9, CH	3.39 m	68.9, CH	3.38 m	68.9, CH	3.38 m
5''	74.1, CH	3.29 t (8.5)	74.1, CH	3.35 ^d	80.7, CH	3.26 m	80.6, CH	3.25 m	80.7, CH	3.24, m
6''	61.0, CH ₂	3.61 d (11.6)	61.0, CH ₂	3.60 m						
		3.42 dd (11.7, 5.7)		3.43 ^d	59.6, CH ₂	3.60 d (2.7)	59.6, CH ₂	3.60, d(2.6)	59.6, CH ₂	3.60, d (2.9)
1'''					100.1, CH	5.13 br s	100.1, CH	5.10 d (1.1)	100.1, CH	5.11, br s

2'''					70.3, CH	3.68 br s	70.3, CH	3.64 br s	70.3, CH	3.66 br s
3'''					70.5, CH	3.44 d (8.8)	70.5, CH	3.43 dd (9.3, 3.0)	70.5, CH	3.44, dd (9.3, 3.2)
4'''					71.6, CH	2.99 td (9.4, 3.2)	71.6, CH	3.00 t (9.5)	71.5, CH	3.00 t (9.4)
5'''					67.9, CH	2.35 dd (9.3, 6.2)	67.9, CH	2.37 m	67.9, CH	2.38, dd (9.2, 6.2)
6'''					17.4, CH ₃	0.58 d (6.2)	17.4, CH ₃	0.56 d (6.2)	17.4, CH ₃	0.57 d (6.2)
CH ₃ -6	8.7, CH ₃	2.10 s	9.1, CH ₃	2.45 s	6.9, CH ₃	1.94 s	6.9, CH ₃	1.93 s	6.8, CH ₃	1.93, s
CH ₃ -8	9.3, CH ₃	2.08 s	9.3, CH ₃	2.20 s						
OCH ₃ -4'									55.1, CH ₃	3.79, s

Recorded at ^a850/213, ^b500/125, ^c600/150 MHz, DMSO-*d*₆ ^dObscured by solvent

Table 5. ^1H and ^{13}C NMR data of compounds 14-16

position	14^a		15^b		16^c	
			δ_{C} , type/ δ_{H} (J in Hz)			
2	77.9, CH	5.55 dd (12.3, 2.7)	78.0, CH	5.60 dd (12.6, 2.9)	163.7, C	
3	42.3, CH ₂	2.84 dd (17.4, 3.0) 3.22 m	42.4, CH ₂	2.87 dd (17.0, 3.1) 3.24 m	105.2, CH	7.09 s
4	198.4, C		198.2, C		182.9, C	
5	157.8, C		157.9, C		156.0, C	
6	111.1, C		111.3, C		114.6, C	
7	161.1, C		161.2, C		158.9, C	
8	110.1, C		110.2, C		110.3, C	
9	157.2, C		157.1, C		152.2, C	
10	104.8, C		104.9, C		107.1, C	
1'	130.8, C		138.9, C		130.9, C	
2'	128.0, CH	7.46 d (8.7)	128.6, CH	7.51 d (7.5)	126.5, CH	8.11 dd (8.0, 1.5)
3'	113.9, CH	6.99 d (8.7)	126.3, CH	7.41 t (7.6)	129.3, CH	7.63 m

4'	159.3, C		128.4, CH	7.35 t (7.3)	132.2, CH	7.63 m
5'	113.9, CH	6.99 d (8.7)	126.3, CH	7.41 t (7.6)	129.3, CH	7.63 m
6'	128.0, CH	7.46 d (8.7)	128.6, CH	7.51 d (7.5)	126.5, CH	8.11 dd (8.0, 1.5)
1''	104.0, CH	4.62 d (7.5)	104.0, CH	4.59 d (7.7)	104.4, CH	4.70 d (7.7)
2''	73.9, CH	3.29 m	73.9, CH	3.29 m	73.9, CH	3.37 m
3''	76.0, CH	3.22 m	76.0, CH	3.22 m	76.0, CH	3.28 m
4''	70.0, CH	3.18m	69.8, CH	3.16 m	69.8, CH	3.21 m
5''	73.5, CH	3.29 m	73.6, CH	3.29 m	73.7, CH	3.33 m
6''	63.0, CH ₂	4.03 dd (12.0, 5.7) 4. 21 dd (11.7, 1.5)	63.0, CH ₂	4.01 dd (11.8, 6.1) 4. 18 dd (11.7, 1.8)	63.0, CH ₂	4.04 dd (11.8, 6.1) 4. 19 dd (11.7, 1.7)
1'''	170.2, C		170.3, C		170.3, C	
2'''	45.6, CH ₂	2.59 d (14.1)	45.5, CH ₂	2.57 d (14.1) 2.44 d (14.1)	45.7, CH ₂	2.50 overlap 2.38 d (14.0)
3'''	68.9, C		69.4, C		68.8, C	

4'''	45.4, CH ₂	2.43 s	45.4, CH ₂	2.41 d (1.91)	45.5, CH ₂	2.32 d (14.9) 2.25 d (14.9)
5'''	172.5, C		172.4, C		173.1, C	
6'''	27.2, CH ₃	1.18 s	27.2, CH ₃	1.15 s	27.4, CH ₃	1.07 s
CH ₃ -6	8.6, CH ₃	2.05 s	8.6, CH ₃	2.02 s	9.0, CH ₃	2.17 s
CH ₃ -8	9.2, CH ₃	2.02 s	9.1, CH ₃	2.01 s	9.2, CH ₃	2.40 s
OCH ₃ -4'	55.2, CH ₃	3.77 s				

Recorded at ^a300/125, ^b600/150, ^c500/125 MHz, DMSO-*d*₆

Table 6. ^1H and ^{13}C NMR data of compounds **17-20**

position	17 ^a		18 ^b		19 ^b		20 ^c	
	δ _C , type/δ _H (<i>J</i> in Hz)							
2	77.9, CH	5.42 dd (12.6, 3.0)	78.0, CH	5.65 dd (12.6, 3.0)	77.8, CH	5.56 dd (12.5, 2.9)	73.9, CH	5.69 dd (13.0, 3.1)
3	42.9, CH ₂	2.76 dd (17.6, 3.7)	42.3, CH ₂	2.92 dd (17.1, 3.3)	42.2, CH ₂	2.85 dd (17.0, 2.9)	41.3, CH ₂	2.82 dd (17.1, 3.0)
		2.99 dd		3.12 m		3.09 m		3.14 m
		(17.1, 12.7)						
4	197.0, C		198.2, C		198.5, C		198.6, C	
5	159.9, C		157.8, C		157.8, C		157.9, C	
6	104.2, C		111.3, C		111.2, C		111.2, C	
7	162.7, C		161.4, C		161.4, C		161.4, C	
8	103.8, C		110.2, C		110.1, C		110.1, C	
9	158.3, C		157.0, C		157.2, C		157.5, C	
10	101.2, C		104.8, C		104.8, C		104.7, C	
1′	129.1, C		128.6, C		130.8, C		125.7, C	
2′	127.9, CH	7.34 d (8.5)	128.6, CH	7.54, d (8.0)	128.0, CH	7.46 d (8.8)	148.0, C	
3′	115.0, CH	6.78 d (8.6)	126.3, CH	7.36–7.47 m	113.9, CH	6.99 d (8.6)	116.2, CH	6.82 d (8.8)

4'	157.2, C		128.4, CH	7.36–7.47 m	159.3, C		114.2, CH	6.79 dd (8.8, 3.0)
5'	115.0, CH	6.78 d (8.6)	126.3, CH	7.36–7.47 m	113.9, CH	6.99 d (8.6)	152.1, C	
6'	127.9, CH	7.34 d (8.5)	128.6, CH	7.54, d (8.0)	128.0, CH	7.46 d (8.8)	112.2, CH	7.04 d (3.2)
1''	72.9, CH	4.62 d (9.7)	104.2, CH	4.59, d (7.2)	104.2, CH	4.58 d (7.5)	104.3, CH	4.60 d (7.9)
2''	71.8, CH	3.52 m	76.3, CH	3.00–3.38 m	76.3, CH	3.01–3.39 m	74.1, CH	3.14–3.30 m
3''	77.9, CH	3.17–3.27 m	77.0, CH	3.00–3.38 m	77.0, CH	3.01–3.39 m	77.1, CH	3.14–3.30 m
4''	69.3, CH	3.17–3.27 m	69.8, CH	3.00–3.38 m	69.8, CH	3.01–3.39 m	69.8, CH	3.14–3.30 m
5''	80.9, CH	3.17–3.27 m	74.0, CH	3.00–3.38 m	74.0, CH	3.01–3.39 m	76.3, CH	3.14–3.30 m
6''	60.0, CH ₂	3.56 m 3.60 m	61.0, CH ₂	3.40 m 3.62 dd (11.7, 1.8)	61.0, CH ₂	3.41 m 3.60 m	61.0, CH ₂	3.42 dd (11.8, 5.7) 3.60 m
CH ₃ -6	7.2, CH ₃	1.94 s	8.7, CH ₃	2.09 s	8.7, CH ₃	2.08 s	8.8, CH ₃	2.10 s
CH ₃ -8			9.3, CH ₃	2.09 s	9.2, CH ₃	2.06 s	9.3, CH ₃	2.09 s
OCH ₃ -4'					55.2, CH ₃	3.77 s		
OCH ₃ -5'							55.4, CH ₃	3.69 s

Recorded at ^a500/125, ^b300/125, ^c600/150 MHz, DMSO-*d*₆

Table 7. ¹H and ¹³C NMR data of compounds 21-24

position	21 ^a		22 ^a		23 ^b		24 ^a	
	δ _C , type/δ _H (<i>J</i> in Hz)							
2	77.6, CH	5.45 dd (12.2, 2.7)	77.9, CH	5.56 dd (12.3, 3.1)	73.8, CH	5.64 dd (12.8, 3.1)	78.0, CH	5.40 dd (12.5, 2.9)
3	42.0, CH ₂	3.17 dd (17.0, 12.3)	42.1, CH ₂	3.19 dd (17.0, 12.4)	41.2, CH ₂	3.09 dd (17.0, 12.8)	42.0, CH ₂	3.19 dd (17.1, 12.5)
		2.75 dd (17.0, 3.0)		2.85 dd (17.0, 3.2)		2.78 dd (17.0, 3.1)		2.74 dd (17.0, 3.1)
4	195.8, C		196.6, C		196.8, C		197.0, C	
5	158.5, C		158.4, C		158.5, C		158.4, C	
6	103.3, C		103.4, C		103.3, C		102.5, C	
7	162.1, C		162.5, C		162.8, C		162.4, C	
8	102.6, C		102.6, C		102.6, C		101.7, C	
9	157.1, C		157.2, C		157.6, C		157.6, C	
10	101.2, C		101.7, C		101.5, C		103.2, C	
1'	131.2, C		139.1, C		125.3, C		129.3, C	
2'	127.9, CH	7.44 d (8.6)	126.3, CH	7.53 d (7.4)	154.2, C		128.0, CH	7.32 d(8.5)
3'	113.9, CH	6.98 d (8.6)	128.6, CH	7.44 t	115.4, CH	6.89, dd,	115.2, CH	6.80 d(8.6)

				(7.5, 7.5)		(8.1, 1.8)		
4'	159.2, C		128.3, CH	7.38 t (7.3, 7.3)	129.1, CH	6.88, td, (8.1, 1.8)	157.4, C	
5'	113.9, CH	6.98 d (8.6)	128.6, CH	7.44 t (7.5, 7.5)	119.1, CH	7.18, td, (7.7, 1.7)	115.2, CH	6.80 d(8.6)
6'	127.9, CH	7.44 d (8.6)	126.3, CH	7.53 d (7.4)	126.5, CH	7.46, dd, (7.6, 1.7)	128.0, CH	7.32 d(8.5)
CH ₃ -6	7.7, CH ₃	1.93 s	7.6, CH ₃	1.97, s	7.7, CH ₃	1.97, s	7.7, CH ₃	1.93 s
CH ₃ -8	8.3, CH ₃	1.92 s	8.3, CH ₃	1.97, s	8.3, CH ₃	1.97, s	8.3, CH ₃	1.95 s
OCH ₃ -4'	55.6, CH ₃	3.77 s						

Recorded at ^a600/150, ^b800/200 MHz, DMSO-*d*₆

Table 8. ¹H and ¹³C NMR data of compounds 25-28

position	25 ^a		26 ^b		27 ^a		28 ^a	
	δ _C , type/δ _H (<i>J</i> in Hz)							
2	73.6, CH	5.56 dd (12.6, 3.0)	73.7, CH	5.60 dd (12.7, 2.8)	78.4, CH	5.44 dd (12.8, 2.9)	157.2, CH	8.25 d(5.9)
3	41.1, CH ₂	3.05 dd (17.0, 12.6)	41.1, CH ₂	3.11 dd (12.7, 17.0)	42.0, CH ₂	3.27 dd (17.1, 12.9)	110.0, CH	6.26 d(5.8)
		2.72 dd		2.76 dd		2.67 dd		
		(17.0, 3.1)		(3.1, 17.0)		(17.1, 3.0)		
4	195.5, C		196.6, C		196.4, C		181.5, C	
5	158.5, C		158.4, C		163.5, C		153.0, C	
6	103.3, C		103.3, C		95.8, C	5.88 s	107.1, C	
7	162.4 C		157.5, C		166.6, C		160.8, C	
8	102.7, C		102.5, C		95.0, C	5.88 s	101.9, C	
9	157.3, C		162.7, C		162.9, C		156.1, C	
10	100.8, C		101.5, C		101.8, C		104.5, C	
1'	126.3, C		126.0, C		128.9, C			
2'	147.8, C		114.0, CH	6.79 s	128.4, CH	7.31 d (8.6)		
3'	116.0, CH	6.80 d (8.7)	147.7, C		115.2, CH	6.79 d (8.6)		

4'	113.9, CH	6.77 dd (8.8, 3.0)	116.0, CH	6.79 s	157.7, C		
5'	152.2, C		152.2, C		115.2, CH	6.79 d (8.6)	
6'	112.1, CH	7.02 d (2.9)	112.1, CH	7.02 s	128.4, CH	7.31 d (8.6)	
CH ₃ -6	7.8, CH ₃	1.93 s	7.6, CH ₃	1.97 s		8.1, CH ₃	2.04 s
CH ₃ -8	8.4, CH ₃	1.94 s	8.2, CH ₃	1.97 s		8.2, CH ₃	2.15 s
OCH ₃ -3'			55.3, CH ₃	3.69 s			
OCH ₃ -4'	55.3, CH ₃	3.69 s					

Recorded at ^a600/150, ^b400/100 MHz, DMSO-*d*₆

Table 9. ^1H and ^{13}C NMR data of compounds 29, 30

position	29 ^a		30 ^b	
	δ_{C} , type/ δ_{H} (<i>J</i> in Hz)			
1	138.8, C		139.8, C	
2	107.6, CH	6.63, brs	110.0, C	
3	158.9, C		160.9, C	
4	103.4, CH	6.39 t (2.0)	103.0, CH	6.50 d (2.2)
5	158.4, C		160.2, C	
6	105.1, CH	6.79 brs	105.8, CH	6.88 d (2.1)
7 (α)	128.5, CH	7.15 d (16.4)	127.8, CH	7.62 d (16.2)
8 (β)	128.5, CH	7.10 d (16.4)	130.5, CH	7.07 d (16.1)
1'	136.9, C		137.0, C	
2'	126.5, CH	7.58 d (7.5)	126.5, CH	7.51 d (7.4)
3'	128.7, CH	7.36 t (7.6)	128.7, CH	7.38 t (7.4)
4'	127.6, CH	7.26 m	127.8, CH	7.28 t (7.3)
5'	128.7, CH	7.36 t (7.6)	128.7, CH	7.38 t (7.4)
6'	126.5, CH	7.58 d (7.5)	126.5, CH	7.51 d (7.4)
1''	100.7, CH	4.81 d (7.6)	100.0, CH	4.95 d (7.4)
2''	73.3, CH	3.22 m	73.1, CH	3.30 m
3''	76.7, CH	3.28 m	76.5, CH	3.14 m
4''	69.8, CH	3.17 m	69.7, CH	3.30 m
5''	77.1, CH	3.33 m	77.2, CH	3.24 m
		3.72 dd		
6''	60.7, CH2	(11.9, 2.0)	60.7, CH2	3.73 d (8.3)
		3.48 dd		3.46 m
		(11.8, 5.8)		
C=O			171.2, C	

Recorded at ^a500/150, ^b400/100 MHz, DMSO-*d*₆

2.2.3. 산가수분해와 당 결정과정

당의 절대구조는 Tanaka et al., 2007 을 참고문헌으로 하여 실험을 진행하였다. 각 화합물 0.5 mg 을 0.5 N 염산 (0.1 mL) 에 녹여 90 °C 에 2시간동안 물 중탕하에 가수분해를 진행하였으며 수산화암모늄을 이용하여 중화한 이후에 감압농축하였다. 그 이후, L-cysteine methyl ester hydrochloride (0.5 mg)을 가수분해산물과 pyridine (0.1 mL)에 녹여 60 °C 에 반응시켰다. 1시간 후, *o*-tolyl isothiocyanate 를 녹인 pyridine (0.1 mL) 을 첨가하여 다시 60 °C 에 1시간동안 반응시켰다. 최종 반응물을 HPLC 에 직접 주입하여 분석에 이용하였다. 분석 HPLC 에 YMC-Triart C18 컬럼 (4.60 × 250 mm, 5 μm) 을 사용하였으며, 35 °C, 25% ACN 조건을 이용하여 40분동안 측정하였다. (유속 0.8 mL/분) 표준품 당인 D-glucose, L-glucose, 그리고 L-rhamnose 를 위와 같은 방법을 통하여 똑같이 반응시킨 후, UV 검출기를 파장 250 nm 로 설정하여 비교해 보았다. Retention time 의 비교를 통하여 화합물 1-10, 14-16, 18-20, 29, 30의 당이 D-glucose 인 것을, 그리고 화합물 11-13 의 당이 L-rhamnose 인것을 확인 할 수 있었다. 각 당들의 retention time 은 19.7분 (L-glucose), 21.7분 (D-glucose), 그리고 37.1분 (L-rhamnose) 이었다.

2.2.4. HMG 의 절대구조 규명과정

(S)-1-Phenylethylamine (반응 화합물의 2 당량), triethylamine (Et₃N, Sigma-Aldrich) (반응 화합물의 3 당량), (benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate (PyBOP, Sigma-Aldrich) (반응 화합물의 1.5 당량), 그리고 1-hydroxybenzotriazole (HOBt, Sigma-Aldrich) (반응 화합물의 2 당량) 을 화합물과 함께 차가운 조건하에 0.3 mL of *N,N*-dimethylformamide (DMF, Sigma-Aldrich) 에 녹인다. 반응은 RT 에서 9시간동안 stirrer 를 이용하여 반응 한 후, 묶은 염산을 이용하여 종료시켰다. 질소가스

하에서 농축을 시키면 노란 반응산물을 얻을 수 있으며, 이것을 silica gel Waters Sep-Pak Plus Long ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 30:1, 20:1, 15:1 그리고 10:1) 를 사용하여 정제를 하여 amide **A** 를 얻었으며 이는 LC-MS 분석을 통하여 확인하였다. LiBH_4 (**A** 의 15당량) 을 **A** 를 녹인 THF (0.3 mL) 에 넣고 24 시간동안 RT 에서 반응시키고, 염산을 통하여 반응을 종료시킨다. 반응산물은 EtOAc 를 사용하여 분획하고 이를 농축한 뒤, 이를 silica gel Waters Sep-Pak Plus Long ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 20:1, 15:1, 10:1 그리고 5:1) 를 사용하여 **B** 를 얻을 수 있었다. 또한 마찬가지로 LC-MS 분석을 통하여 확인한 후, Ac_2O (**A** 의 5당량) 를 pyridine (30 μL) 에 함께 넣고 acetylation 을 진행하였다. 반응은 25 $^\circ\text{C}$ 에서 24시간 동안 진행하였고 물과 EtOAc 를 통하여 분획을 진행하였다. HPLC 를 사용하여 정제를 하였으며 무색의 기름 **C** 를 최종적으로 얻을 수 있었다. 최종반응 산물인 **C** 의 ^1H NMR 를 측정하였으며, 이는 (3*R*)-5-*O*-acetyl-1-[(*S*)-phenylethyl]-mevalonamide 의 NMR data 와 비슷함을 참고문헌과 비교하여 확인하였으므로, HMG 의 3번 위치의 절대구조는 (3*S*) 임을 확인하였다. (Kamo et al., 2004) (실험에 사용한 각 화합물들의 양은 다음과 같다. **1**: 5.1 mg, 8.22 μmol ; **2**: 5.3 mg, 8.97 μmol ; **3**: 5.1 mg, 8.22 μmol ; **4**: 5.1 mg, 8.64 μmol ; **7**: 5.6 mg, 8.8 μmol ; **8**: 5.3 mg, 8.74 μmol , **14**: 4.2 mg, 6.77 μmol ; **15**: 5.8 mg, 9.82 μmol ; and **16**: 5.5 mg, 9.34 μmol)

2.2.5. H1N1 인플루엔자 바이러스에 대한 neuraminidase 억제 활성 평가

2.2.5.1. 세포 배양 및 neuraminidase 의 발현

HEK293 세포 (human embryonic kidney cells) 와 MDCK 세포 (Maldin-Darby canine kidney cells) 는 10% FBS (fetal bovine serum) 을 함유한 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Hyclone, Logan, UT) 배지를 사용하여 37 °C, 5% CO₂ 조건하에서 유지하였다. HEK293 세포는 6-well plate 에 10⁶ cells/well 로 분주한 후, 24시간 뒤에 PEI transfection 시약 (Polyscience, Inc., Warrington, PA, USA) 을 사용하여 plasmid H1N1 (WT) 또는 H274Y 를 transfection 하였다. H1N1 (WT) 와 oseltamivir-resistant H1N1 (H274Y) plasmid 는 Nguyen et al., 2011 을 참고하여 복제하였다. Transfection 이후에, 5% FBS 를 함유한 DMEM 을 사용하여 계대배양하였다. Transfection 을 하고 48시간 이후에 배지를 제거하고, 세포들을 0.02% EDTA (Ethylene diamine tetraacetic acid) 를 함유한 PBS (phosphate buffered saline) 을 처리하고 harvest 하였다.

2.2.5.2. Neuraminidase 억제 실험

Neuraminidase 효소를 준비하기 위하여, MDCK 세포를 큰 스케일로 인플루엔자 바이러스 (H1N1 A/PR/8/34 바이러스 또는 H9N2 A/chicken/Korea/01210/2001 바이러스)로 감염을 시킨다. 바이러스성 감염성을 불활성화 하기 위하여, 현탁액에 포름알데하이드 용액을 최종 농도 0.1% 로 37 °C 에 30분동안 배양하였다. Neuraminidase 저해 활성은 4-methylumbelliferyl- α -D-N-acetylneuraminic acid sodium salt hydrate (4-MU-NANA) (Sigma-Aldrich)를 형광 기질로 사용하고, 32.5 mM 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid 와 4 mM CaCl₂

(pH 6.5)를 효소 buffer 를 사용하여 실험하였다. 일반적으로, 실험은 다음과 같은 방법을 단계로 수행하였다: (1) 바이러스懸液 10 μ L 와 효소 buffer 에 다양한 농도로 희석한 화합물 10 μ L 를 합하여 96-well plate 에 넣었다; (2) 37°C에서 30분의 배양 후, 4-MU-NANA 기질 30 μ L를 각 well 에 추가하였다; (3) 반응은 37°C 에서 2시간동안 배양 후, 150 μ L 의 stop solution (25% EtOH 와 0.1 M glycine, pH 10.7)을 넣어 반응을 종료하였다; (4) 반응의 형광 강도는 360 nm의 excitation 파장과 440 nm의 emission wavelength 을 형광 microplate reader 기를 사용하였다. (SpectraMax GEMINI XPS, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)

2.2.5.3. Cytopathic Effect (CPE) 억제 실험

MDCK 세포는 10% fetal bovine serum (FBS) (Hyclone, Logan, UT USA) 를 포함하는 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Hyclone, Logan, UT)를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건하에 계대배양하였다. 세포들은 96-well에 1well 당 1×10^5 개의 세포로 분주하여 24 시간동안 배양하였다. 그리고, 인플루엔자 H1N1 A/PR/8/34 바이러스는 세포단층과 함께 2시간동안 0.15 μ g/mL 트립신과 5 μ g/mL bovine serum albumin(BSA)를 포함하는 DMEM를 사용하여 감염시켰다. 그 배지는 10 μ g/mL 트립신을 포함하고 여러 농도의 실험 화합물들을 포함하는 새로운 DMEM으로 대체해 준다. 바이러스 억제는 각 실험 화합물농도를 triplicate로 실험하였다. 3일의 배양기간을 거친 후, 세포는 새로운 DMEM 으로 대체해주고 2 mg/mL 농도 20 μ L의 MTT 용액 [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (Sigma-Aldrich) 을 각 well 에 첨가하고 4시간동안 37°C 에서 배양했다. Formazan crystal 은 100 μ L DMSO 에 용해시킨 후, microplate reader 를 사용하여 550 nm에서 흡광정도를 측정했다. (VersaMax™, Randor, PA, USA)

2.2.5.4. 세포 독성 실험

세포 생존율은 MTT 방법을 사용하였다. MDCK 세포는 96-well 에서 1well 당 1×10^5 개의 세포로 키웠다. 24시간의 배양 후, 세포는 phosphate-buffered saline (PBS)로 씻어주고 각종 농도의 실험 화합물들을 포함한 새로운 DMEM으로 대체해주었다. 화합물들은 triplicate 로 각 농도별로 실험하였다. 이틀동안 배양하고 2 mg/mL MTT 용액을 각 well 에 넣고, 추가적으로 4시간동안 배양하여 실험한다. 상등액은 제거하고 formazan crystal은 100 μ L DMSO 에 용해하고 550 nm 의 파장에서 측정하였다.

2.2.5.5. 통계 처리

데이터는 독립된 세개의 실험의 평균값 \pm 표준편차로 표현하였다. 50%저해농도 (IC_{50}), 효능 농도 (EC_{50}), 독성 농도 (CC_{50})의 통계 분석은 Sigma Plot 통계 분석 소프트웨어(SPCC Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하였다.

제 3장 연구의 결과와 고찰

3.1. 개면마에서 분리한 화합물의 구조 설명

3.1.1 화합물 1

화합물 1은 노란 무정형의 분말로, HRESIMS 측정을 통하여 negative mode 에서 m/z 619.2028 $[M - H]^-$ (calcd for 619.2027) 의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{30}H_{36}O_{14}$ 이다. UV spectrum 에서 214, 282, 349 nm 에서 극댓값을 확인하여 이 화합물이 flavanone 임을 유추할 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR data (Figure 7, Figure 8) 를 통하여 화합물 14 와 유사한 5,6,7,8,4'번의 탄소가 치환 되어있는 flavanone이며, 한 개의 methoxy, 한 개의 당과 한 개의 3-hydroxy-3-methylglutaryl(HMG) 잔기를 갖고 있는 물질임을 예상 할 수 있었다. HMG 잔기는 화합물 14 와 1H NMR 을 비교 하였을 때, 당의 6번위치에 결합하였을 때 나타나는 위치의 피크에 보이지 않고, δ_H 4.60 ppm 에 새로운 피크를 확인할 수 있었다.

COSY spectrum 을 통하여 당의 4번위치의 피크임을 확인 할 수 있었고, HMBC spectrum 을 통하여 HMG 잔기의 1번 탄소 (δ_C 169.9)로 신호가 들어가는 것을 통하여 HMG 잔기와 당의 연결위치를 알 수 있었다. HMBC spectrum 에서 methoxy 기의 수소 피크 (δ_H 3.77) 와 C-4'의 탄소 피크(δ_C 159.4)의 correlation 을 통하여 그 위치를 확인하였다. 마찬가지로 당의 위치는 anomeric 수소 [δ_H 4.68 (d, $J = 7.7$ Hz, H-1'')]와 C-7 (δ_C 161.2) 의 HMBC correlation 으로 확인하였다. (Figure 10)

당은 (Tanaka et al., 2007)의 논문을 참고하여 화합물 1을 가수분해한 후, arylthiocarbamoyl-thiazolidine 유도체를 만들어 표준품의 유도체와 함께 HPLC 비교분석을 하여 D-glucose 임을 확인하였다. 이 물질은 flavanone 모핵의 C-2 위치와 HMG 잔기의 C-3''' 위치에서 절대구조를 규명해야 한다. C-2 위치는 ECD spectrum 의 측정을 통하여 282nm 에서 negative Cotton effect 가 나타나는 것을 확인하여 (2S)

로 결정하였다. (Figure 11) 그리고, HMG 잔기의 절대구조는 (Hattori et al., 2007) 의 논문을 참고하여 amidation, reduction, acetylation 의 일련의 반응과정을 통하여 만든 최종결과물을 기존의 보고된 참고문헌과 비교하여 절대구조를 (*S*)로 결정하였다. (Kamo et al., 2004) (Figure 12) 위의 모든 결과들을 토대로 화합물 1을 (*2S*)-matteucinol-7-*O*-[4''-*O*-((*S*)-3-hydroxy-3-methylglutaryl)]- β -D-glucopyranoside로 결정하였으며 이를 matteuorientate D 로 명명하였다. 이는 천연에서 처음 분리보고 되는 물질이다.

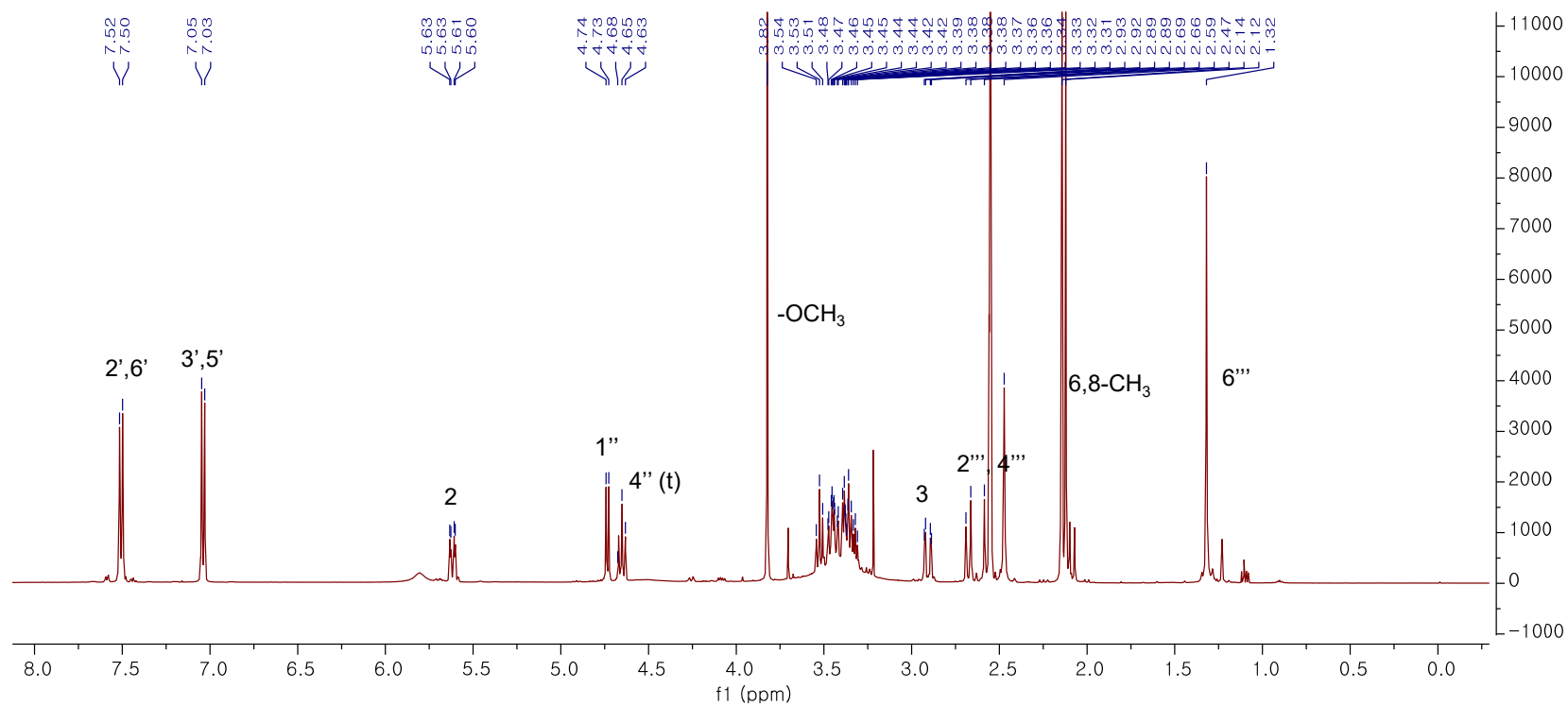
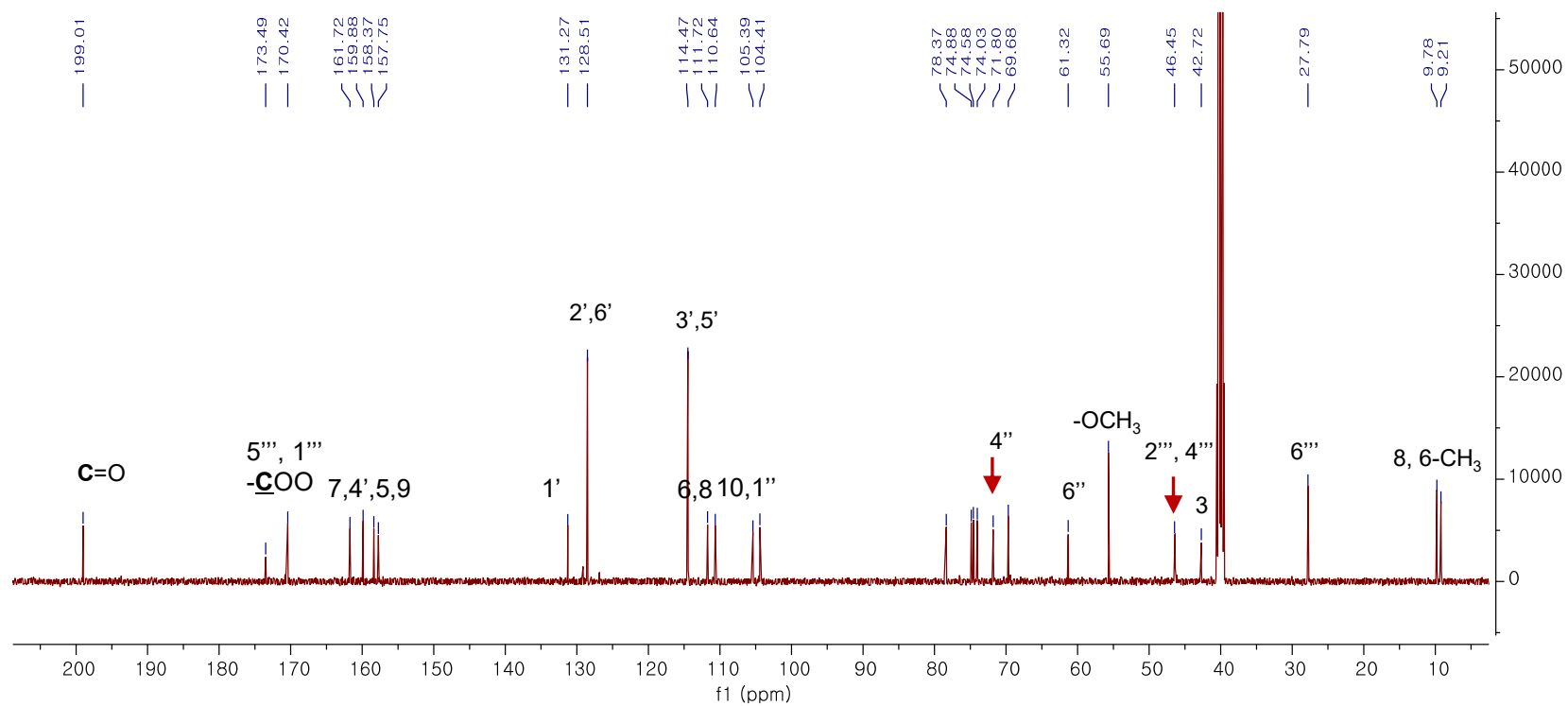


Figure 7. ¹H NMR spectrum of compound 1



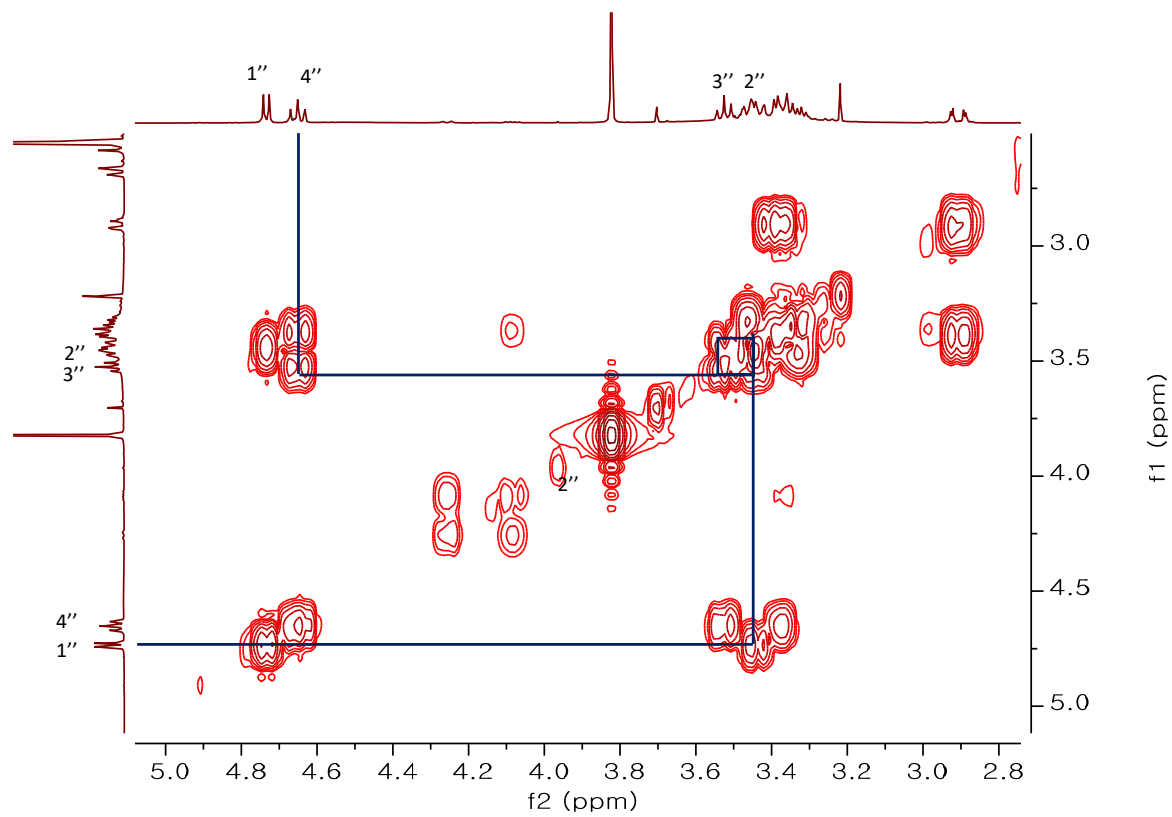


Figure 9. COSY spectrum of compound **1**

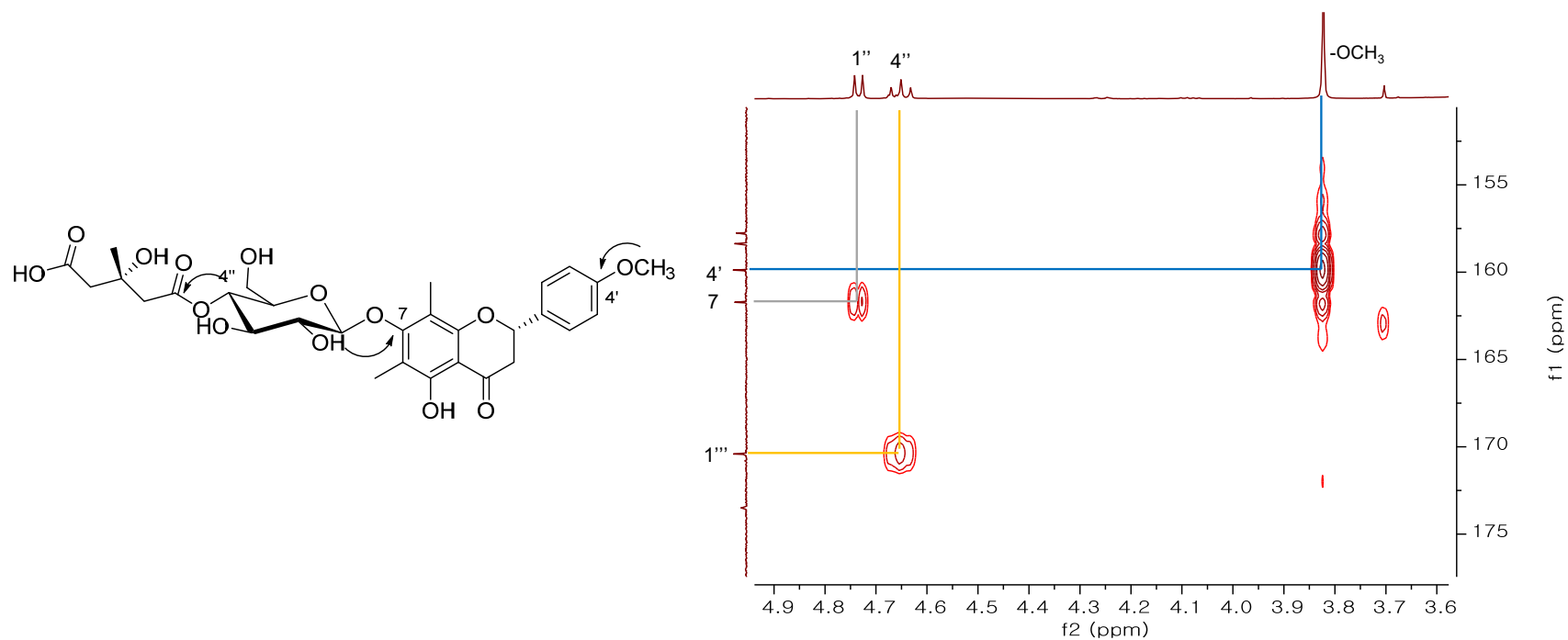


Figure 10. HMBC spectrum of compound 1

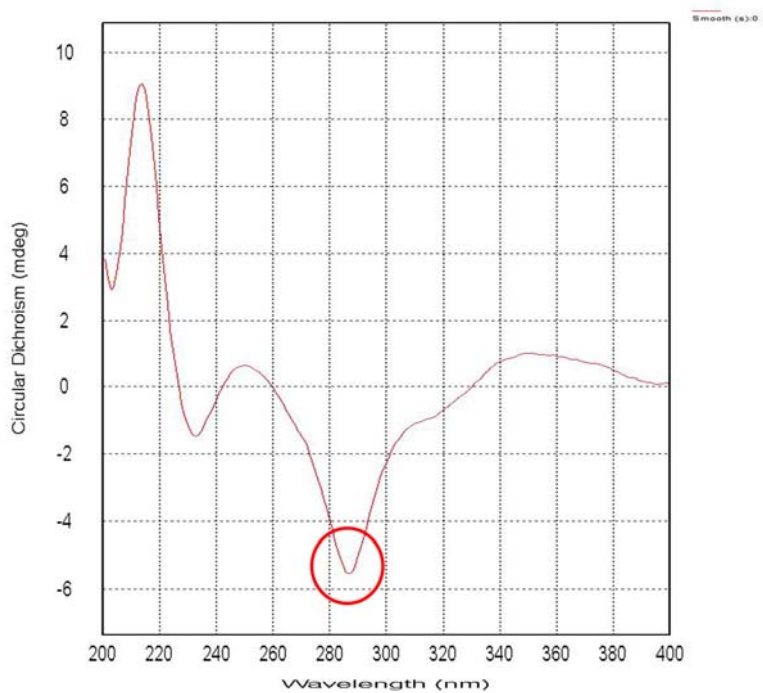
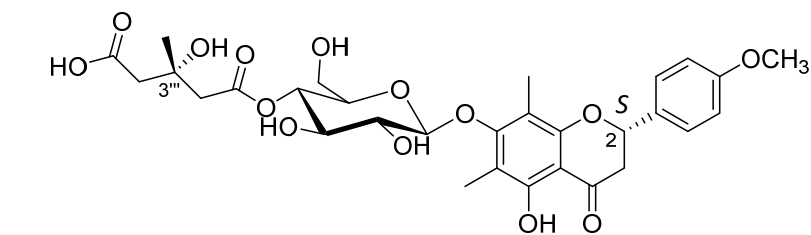


Figure 11. ECD spectrum of compound 1

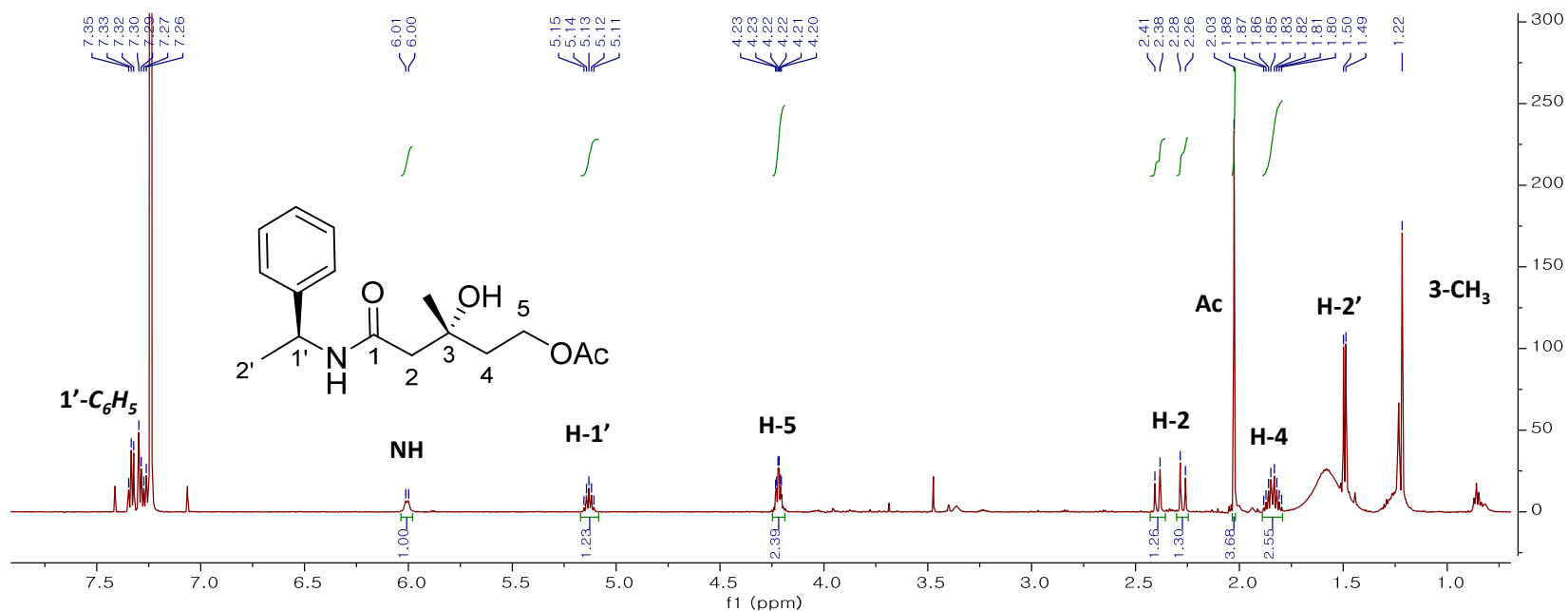


Figure 12. NMR values of reaction product of HMG moiety

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ 7.30 (5H, m, 1'-C₆H₅), 6.09 (1H, d, J = 7.4 Hz, NH), 5.13 (1H, p, J = 7.1, 7.1, 7.1, 7.1 Hz, H-1'), 4.22 (1H, td, J = 6.9, 3.0 Hz, H-5), 2.39, 2.27 (1H, d, J = 14.8 Hz, H-2), 2.03 (3H, s, 5-OCOCH₃), 1.85 (2H, m, H-4), 1.49 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-2'), 1.22 (3H, s, 3-CH₃)

3.1.2 화합물 2

노란 무정형의 분말의 형태를 가지는 화합물 2는, HRESIMS 측정을 통하여 $C_{29}H_{34}O_{13}$ 의 분자식을 갖고, negative mode 에서 m/z 589.1929 $[M-H]^-$ (calcd for 589.1921) 의 값을 나타내는 물질임을 확인하였다. 화합물 1과 마찬가지로 UV spectrum 에서 250, 282, 350 nm 의 극대값을 통하여 flavanone 임을 유추할 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR 을 통하여 화합물 1과 매우 유사하지만 flavonoid B-ring 에서의 패턴이 다름을 확인 할 수 있었다. [δ_H 7.53 (d, $J = 7.3$ Hz, H-2', 6'), 7.44 (dd, $J = 7.3, 7.3$ Hz, H-3', 5'), 7.38 (t, $J = 7.3$ Hz, H-4')] 에서의 패턴을 통하여 flavonoid B-ring 이 단일치환 되어 있는 것을 알 수 있었으며, 이는 화합물 15에서 확인 할 수 있는 동일한 패턴이다. 화합물 1과 마찬가지로 δ_H 4.60 ppm 에서 나타나는 피크와 COSY spectrum을 통하여 당의 4번 위치와 연결되어있는 HMG 잔기를 유추할 수 있었고, anomeric 수소 (δ_H 4.69)와 C-7 (δ_C 161.2)의 상호작용, 당의 4번 수소 (δ_H 4.60)와 HMG 잔기의 carbonyl 탄소 (δ_C 169.9)의 상호작용을 HMBC spectrum 에서 확인하여 HMG 잔기의 위치와 더불어 당의 연결 위치도 확인 할 수 있었다. HMG 잔기와 flavonoid 의 절대구조는 화합물 1에서 설명한 것과 동일한 방법으로 각각 (2*S*), (3'''*S*)임을 확인하였다. 모든 결과를 종합하여 화합물 2를 (2*S*)-demethoxymatteucinol-7-*O*-[4''-*O*-((*S*)-3-hydroxy-3-methylglutaryl)]- β -D-glucopyranoside 로 결정하였으며, matteuorientate E 로 명명하였다.

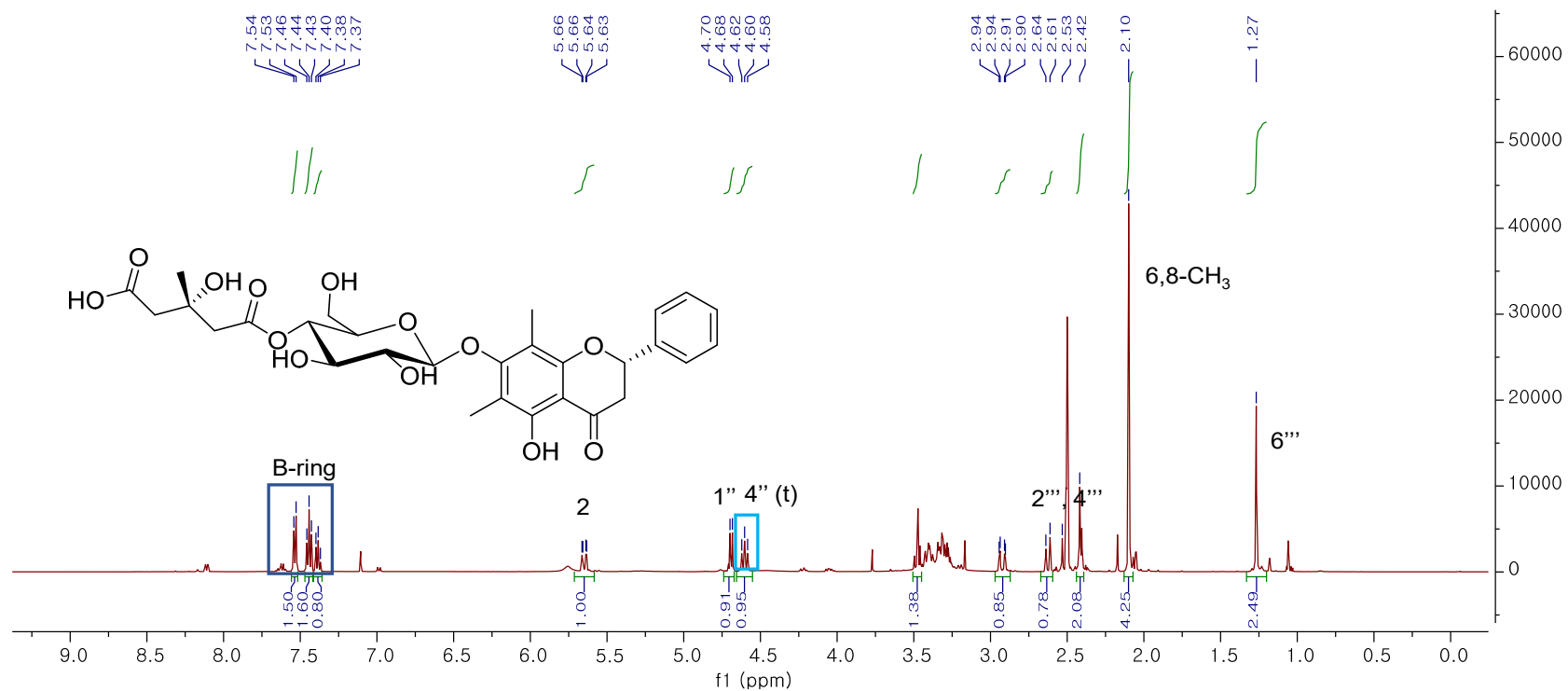


Figure 13. ¹H NMR spectrum of compound 2

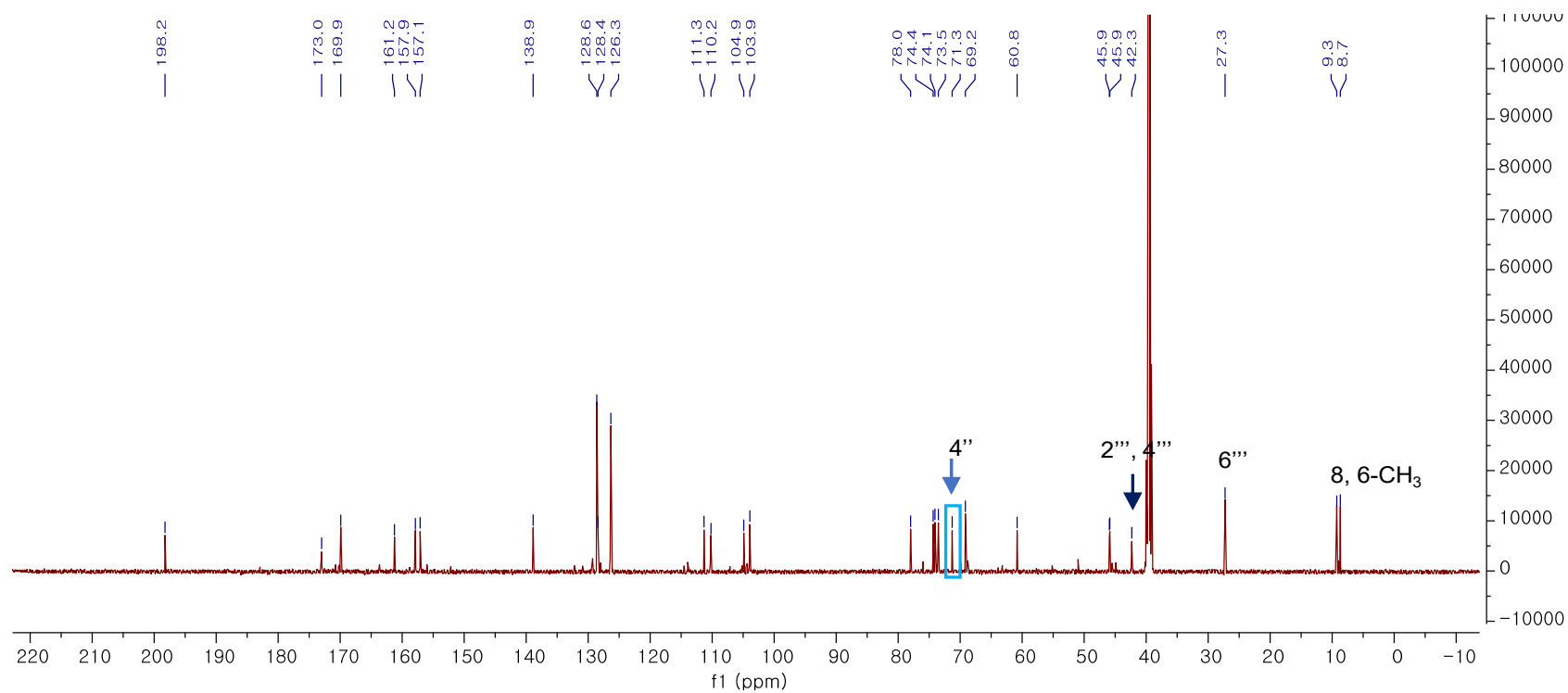


Figure 14. ¹³C NMR spectrum of compound 2

3.1.3. 화합물 3, 4

화합물 3은 화합물 1과 마찬가지로 $C_{30}H_{36}O_{14}$ 의 분자식을 나타내는 노란 무정형의 분말이다. UV 와 IR spectrum, 1H 와 ^{13}C NMR 을 통하여 각 화합물들은 화합물 1와 매우 유사함을 확인 할 수 있었다. 다만, HMG 잔기의 결합위치가 달라졌음을 1H NMR의 δ_H 4.84을 통하여 확인할 수 있었는데, 화합물 1, 2는 당의 anomeric 수소의 위치(δ_H 4.68)가 HMG 와 연결된 수소의 피크 (δ_H 4.60)보다 downfield에 위치했던 반면, 화합물 3은 anomeric 수소(δ_H 4.73)가 HMG와 연결된 수소 피크 (δ_H 4.84)보다 upfield에 위치하는 것을 1H NMR에서 확인 할 수 있었다. HMG 의 연결위치인 δ_H 4.84 는 COSY spectrum 을 통하여 당의 3번 위치임을 확인 하였으며, HMBC spectrum 에서 carbonyl 탄소 (δ_C 170.1)와의 상호작용을 통하여 HMG 잔기의 위치를 확정지을 수 있었다. HMG 잔기의 절대구조와 flavonoid 의 절대구조는 화합물 1에서처럼 연속적인 반응과 ECD spectrum 의 측정을 통하여 (2*S*), (3''*S*) 임을 확인하였다. 이상의 결과를 종합하여 화합물 3을 (2*S*)-matteucinol-7-*O*-[3''-*O*-((*S*)-3-hydroxy-3-methylglutaryl)]- β -D-glucopyranoside 로 결정하고, 이를 matteuorientate F 라고 명명하였다. 화합물 4도 화합물 3과 같은 분자식 $C_{29}H_{34}O_{13}$ 을 가지는 노란 무정형 분말이다. 화합물 1과 2의 관계같이 구조의 절대구조, 당의 위치, HMG 잔기의 결합 위치가 동일하지만 aglycone의 차이라고 할 수 있는 flavonoid B-ring 의 4'위치에서의 methoxy 치환기의 유무가 화합물 3과의 차이점이다. 1H 와 ^{13}C NMR 을 포함한 1D 와 2D NMR 을 통하여 확인 할 수 있다. 이상으로, 화합물 4를 (2*S*)-demethoxymatteucinol-7-*O*-[3''-*O*-((*S*)-3-hydroxy-3-methylglutaryl)]- β -D-glucopyranoside, (matteuorientate G) 라고 명명하였다.

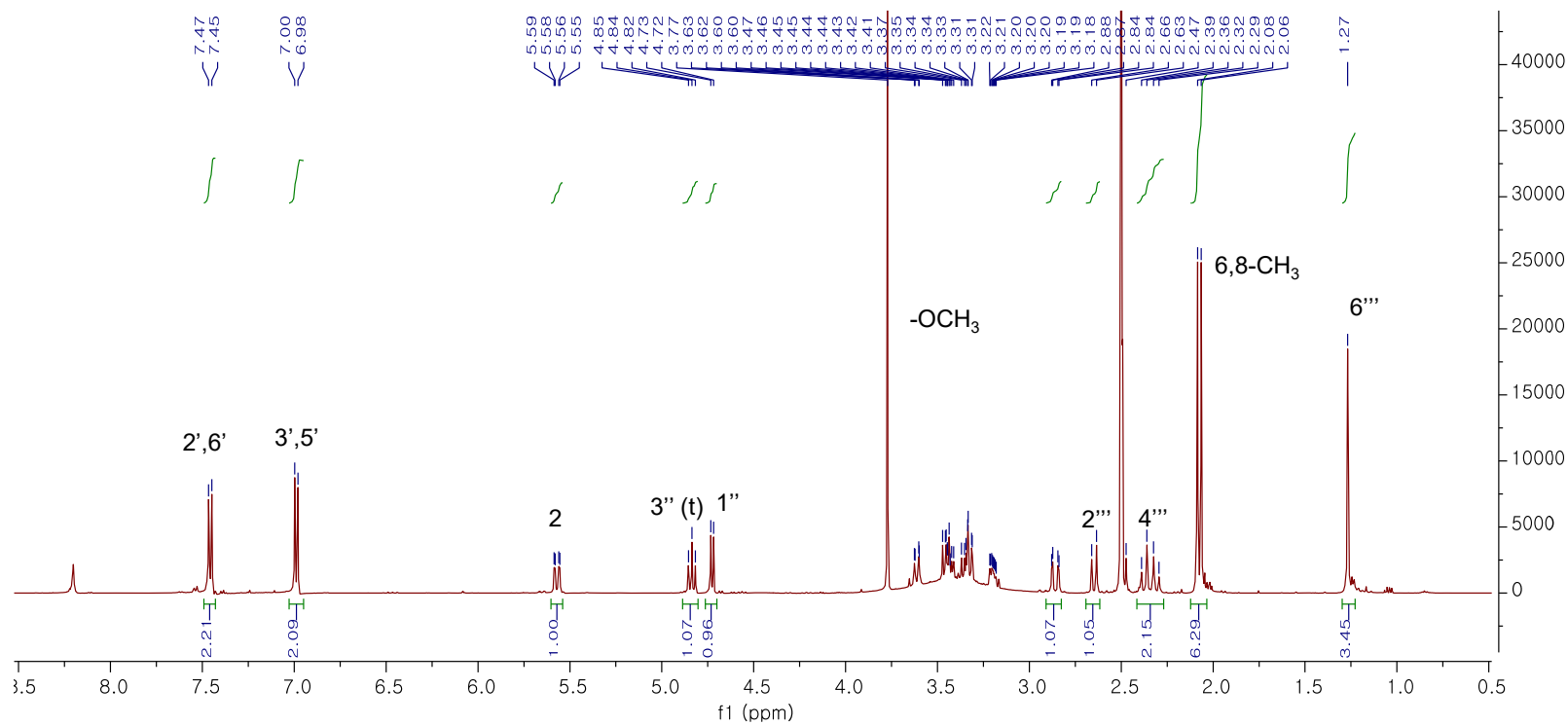


Figure 15. ¹H NMR spectrum of compound 3

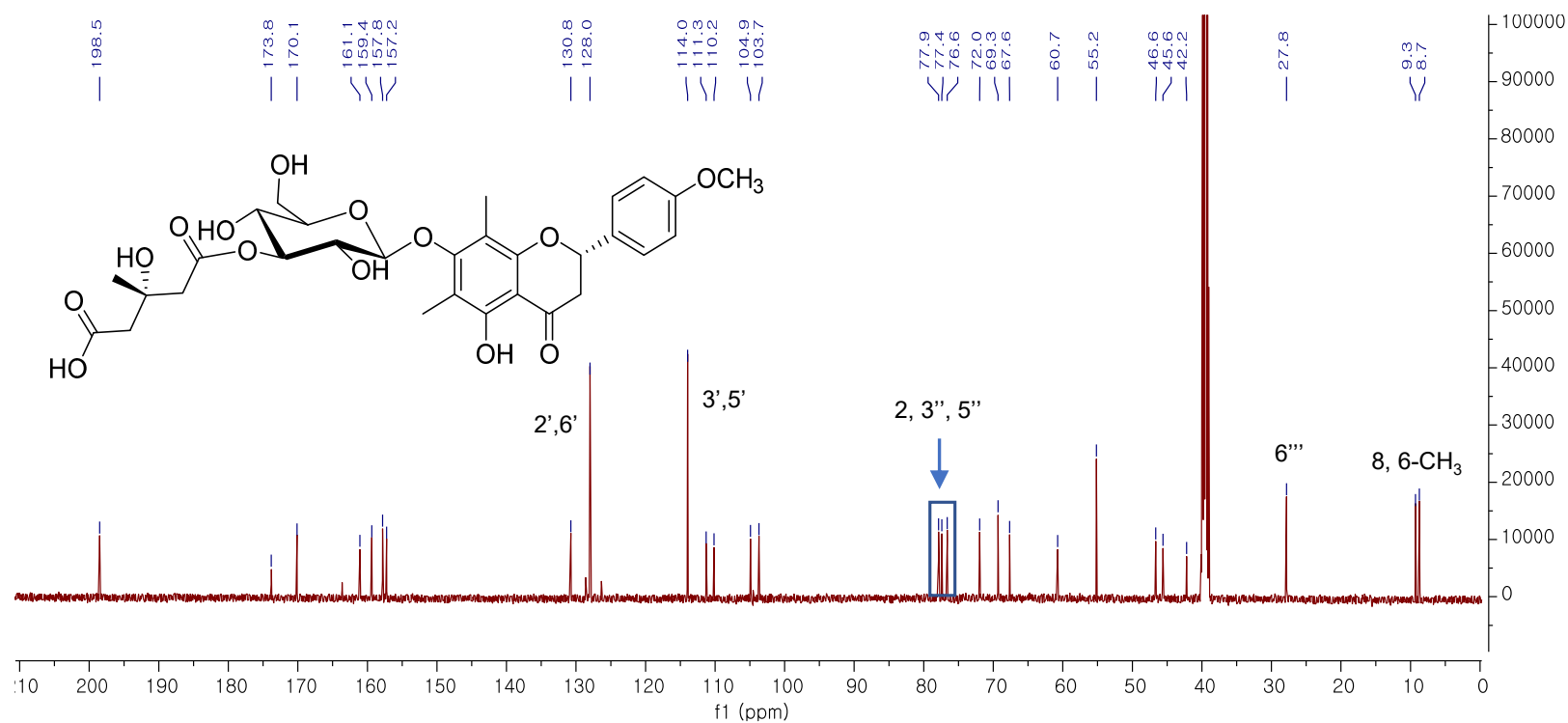


Figure 16. ¹³C NMR spectrum of compound 3

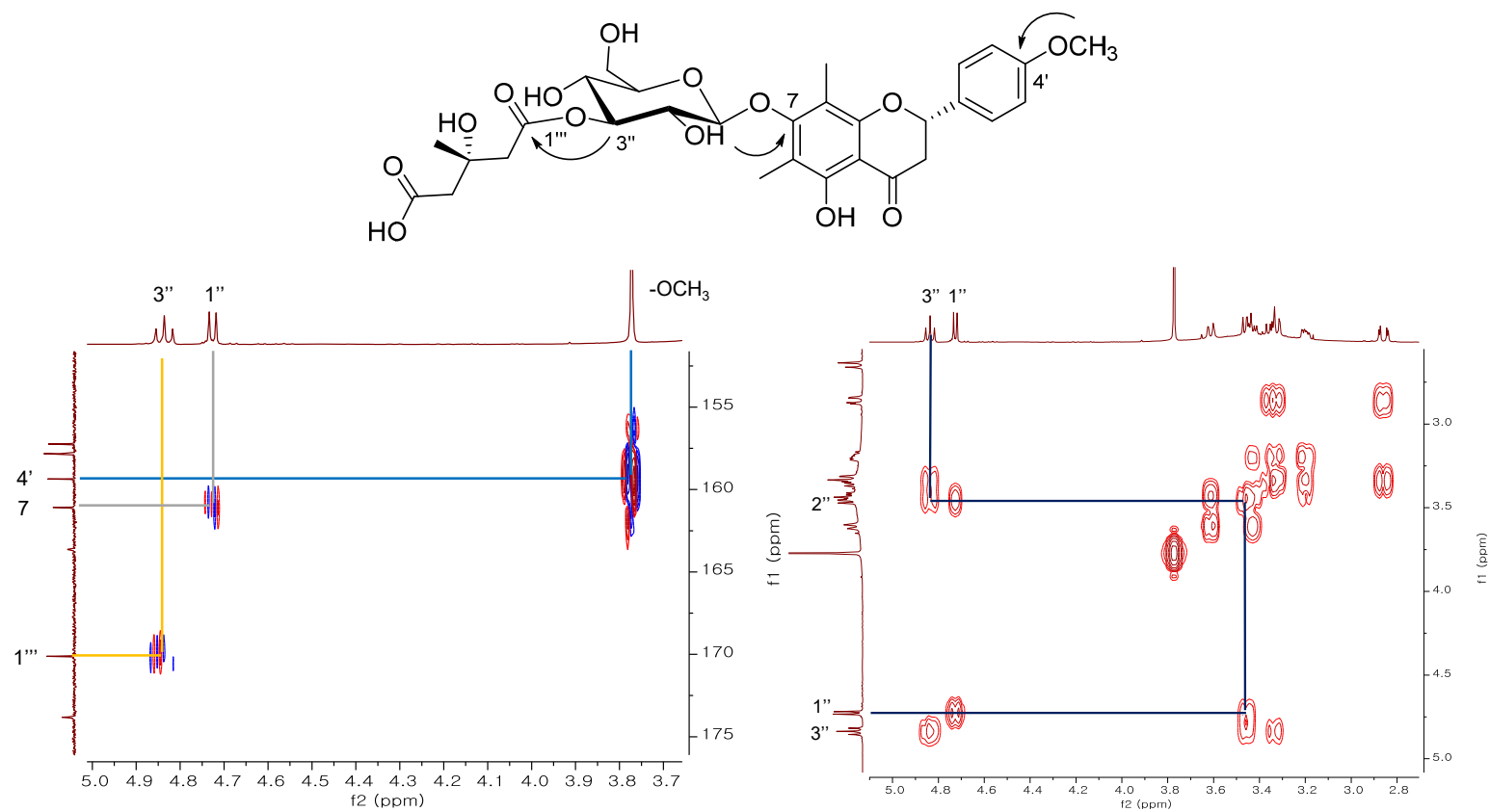


Figure 17. HMBC and COSY spectrum of compound 3

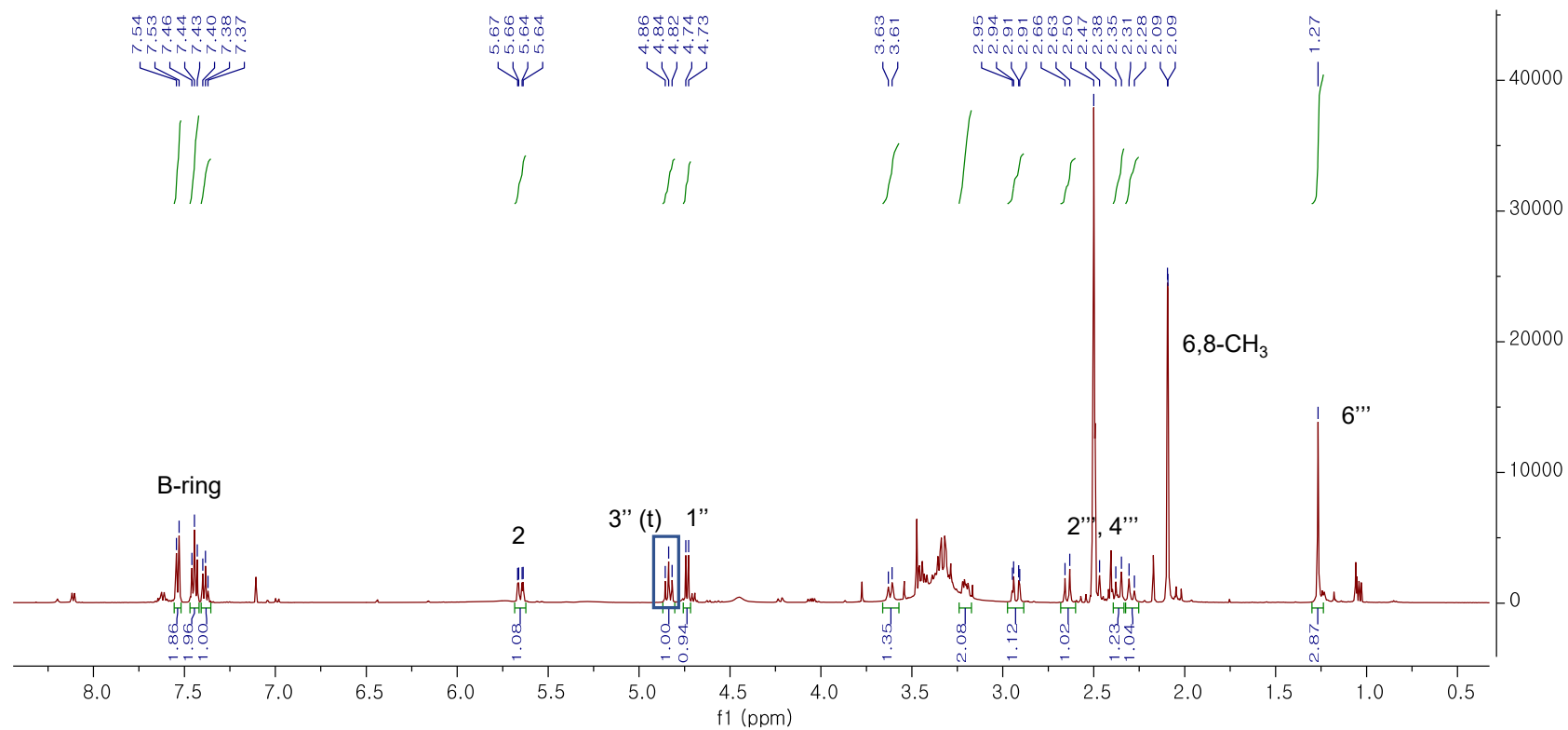


Figure 18. ¹H NMR spectrum of compound 4

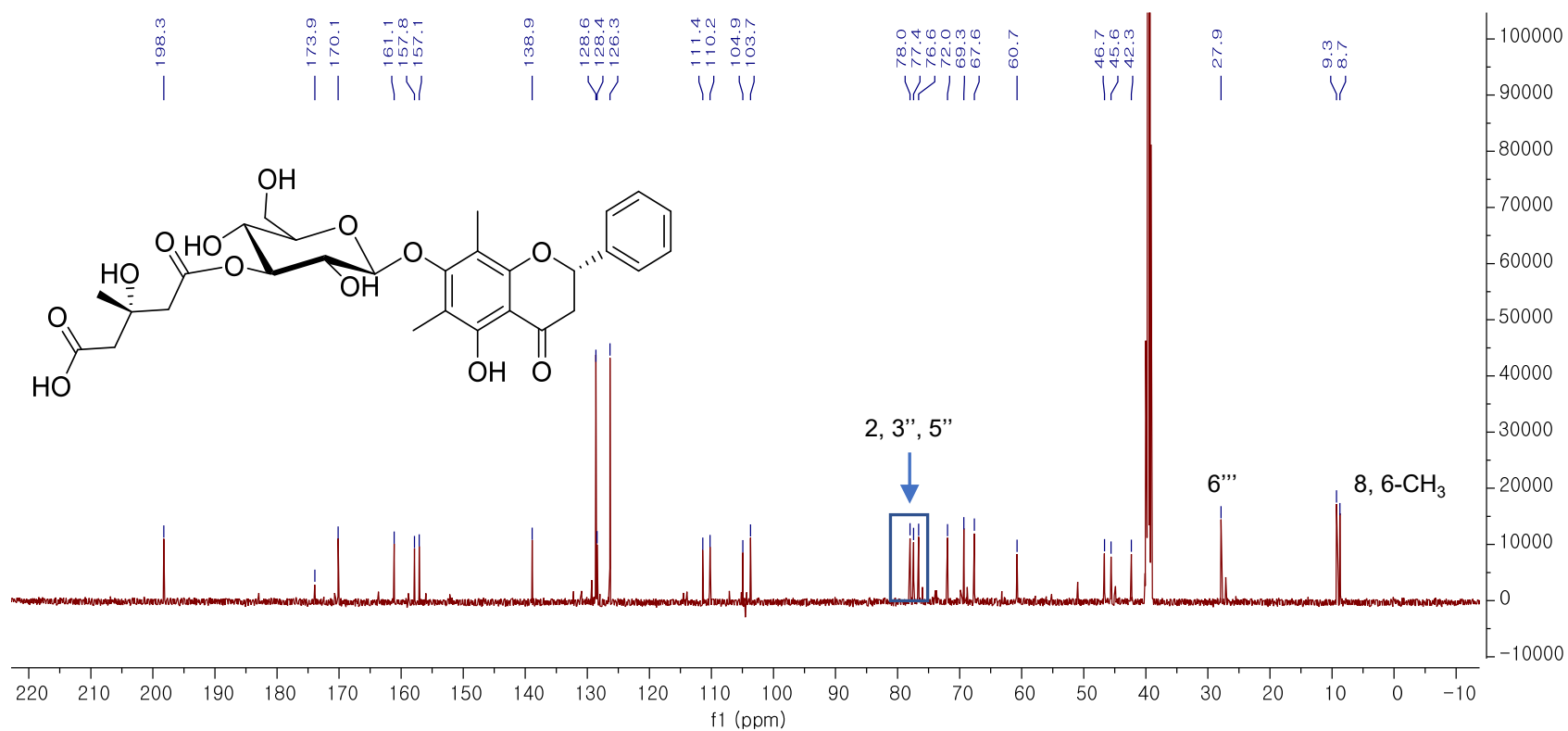


Figure 19. ¹³C NMR spectrum of compound 4

3.1.4. 화합물 5, 6

화합물 5는 노란 무정형의 분말로 HRESIMS를 통하여 분자식이 $C_{30}H_{36}O_{15}$ 임을 알 수 있었다. MS 값을 통하여 화합물 5는 화합물 1과 3보다 산소 개수가 한 개 더 많은 것을 통하여 -OH 기가 하나 더 있을 것으로 유추할 수 있었다. UV, IR spectrum 과 1H 과 ^{13}C NMR 을 통하여 HMG 잔기의 위치는 당의 6번위치에 연결 되어있음을 알 수 있었으며, flavonoid B-ring에서 나타나는 패턴이 [δ_H 6.46 (br s, H-3'), 6.47 (m, H-5'), 7.36 (d, $J = 8.2$ Hz, H-6')] 로 나타나 1,3,4- 또는 1,2,5- 또는 1,2,4-삼중치환되어있을 것으로 예상하였다. HMBC spectrum 을 통하여 δ_{H-2} 5.63 와 $\delta_{C-2'}$ 155.7, 그리고 $\delta_{H-6'}$ 7.36 와 $\delta_{C-4'}$ 160.3, $\delta_{C-2'}$ 155.7 와의 상호작용을 통하여 1,2,4-치환된 화합물임을 확인하였다. 또한 δ_H 3.71 와 δ_C 160.3을 통하여 C-4' 에 methoxy 기가 있음을, δ_H 4.62 와 δ_C 161.1의 상호작용을 확인하여 C-7 에 당이 연결 되었음을 확인 하였다. 화합물 6은 1H 와 ^{13}C NMR 이 5와 매우 유사하고, 분자식이 같아서 평면구조가 같은 화합물임을 예상 하였으며, δ_H 5.69 (dd, $J = 13.8, 2.4$ Hz, H-2), [δ_H 2.67 (dd, $J = 17.2, 2.4$ Hz), 3.39 (overlapped), H-3] 과 flavonoid B-ring 의 1H 값들 [δ_H 6.50 (d, $J = 2.5$ Hz, H-2'), 6.41 (dd, $J = 8.5, 2.5$ Hz, H-5'), 7.32 (d, $J = 8.6$ Hz, H-6')] 의 chemical shift 차이를 확인하였다. 이를 통하여 화합물 5와 6은 C-2 에서의 epimer 관계임을 예상 할 수 있었으며, 이는 두 물질의 ECD spectra를 통하여 확인 할 수 있었다. 파장 289 nm 에서 화합물 5는 negative Cotton effect를, 화합물 6은 positive Cotton effect를 나타내어 각각 (2*S*) 와 (2*R*)-configuration 임을 확인하였다. 위의 모든 결과들을 종합하여 화합물 5 와 6을 각각 (2*S*)-2'-hydroxymatteucinol-7-*O*-[6''-*O*-((*S*)-3-hydroxy-3-methylglutaryl)]- β -D-glucopyranoside, (2*R*)-2'-hydroxymatteucinol-7-*O*-[6''-*O*-((*S*)-3-hydroxy-3-methylglutaryl)]- β -D-glucopyranoside 로 결정하고, matteuorientate H 와 I로 명명하였다.

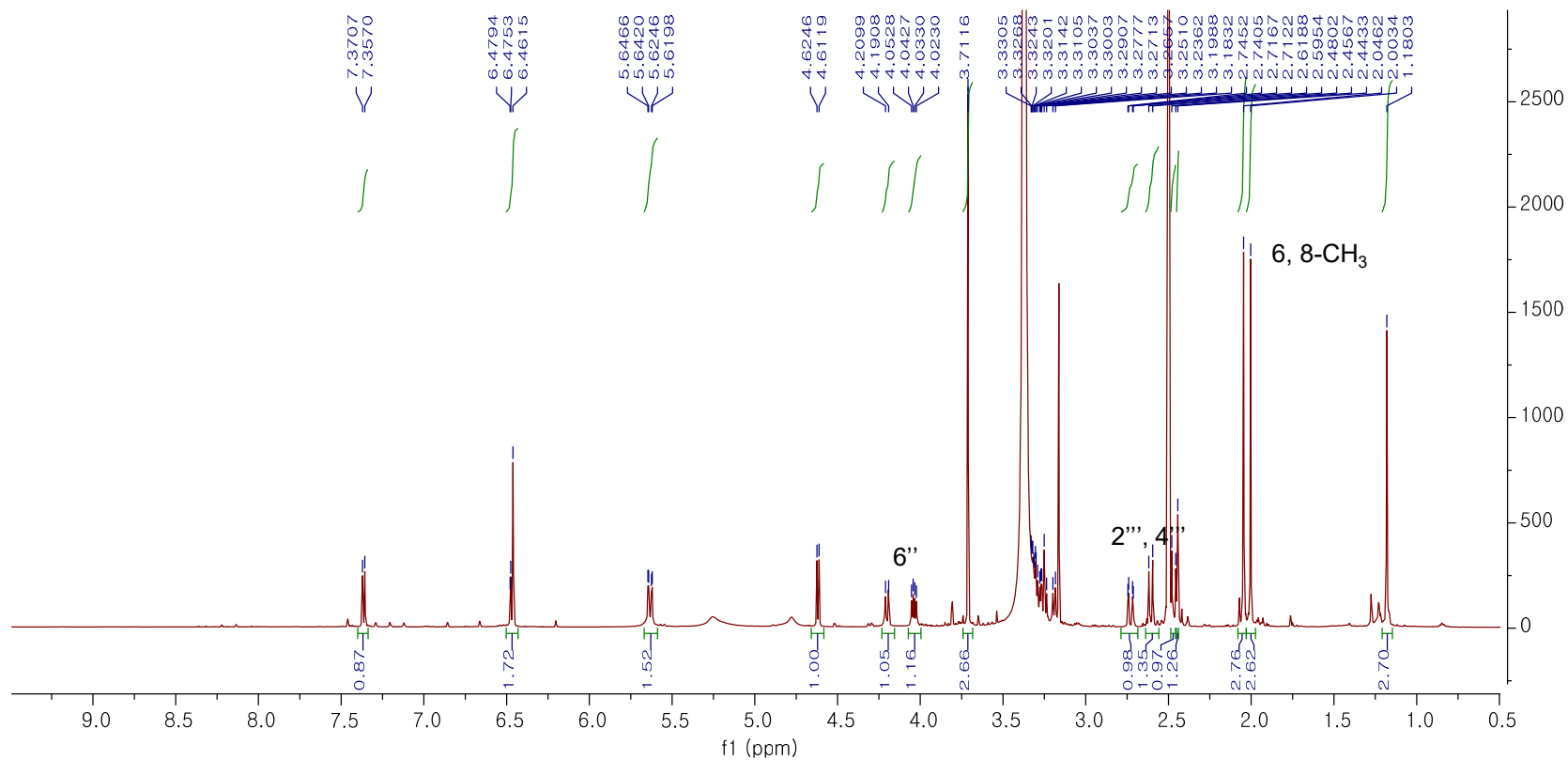


Figure 20. ¹H NMR spectrum of compound 5

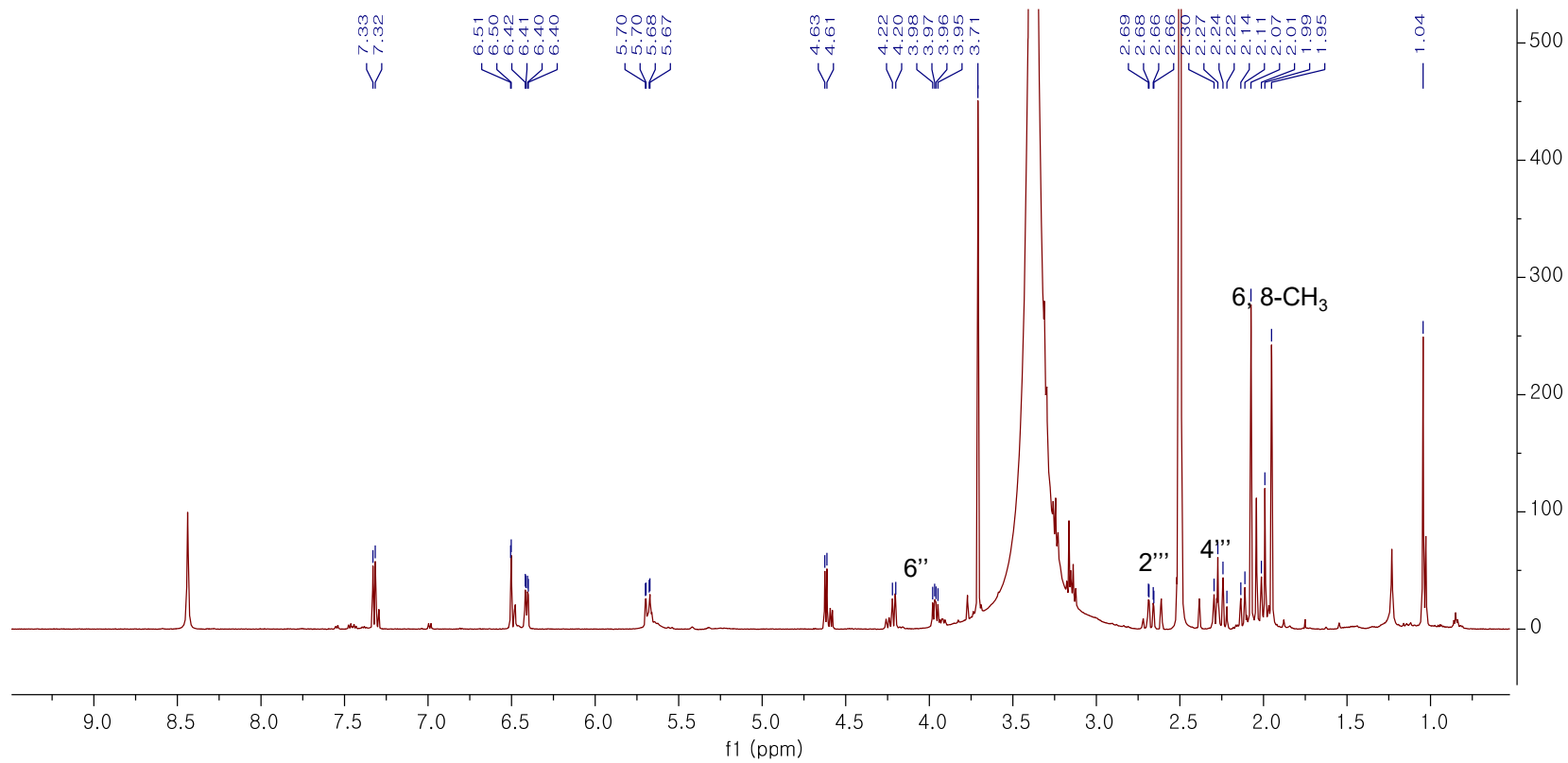


Figure 21. ¹H NMR spectrum of compound **6**

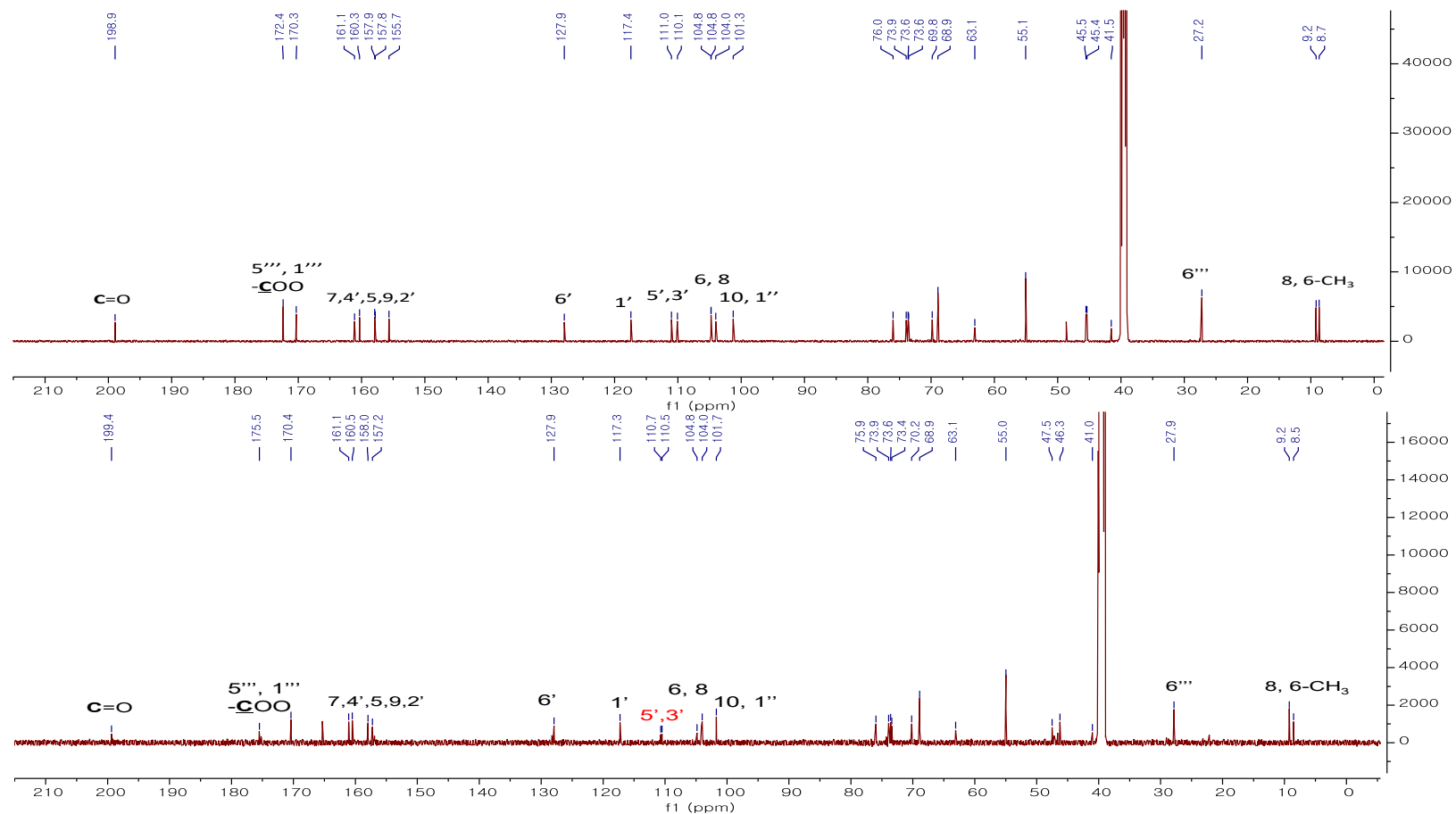


Figure 22. ^{13}C NMR spectrum of compounds 5 (above) and 6 (below)

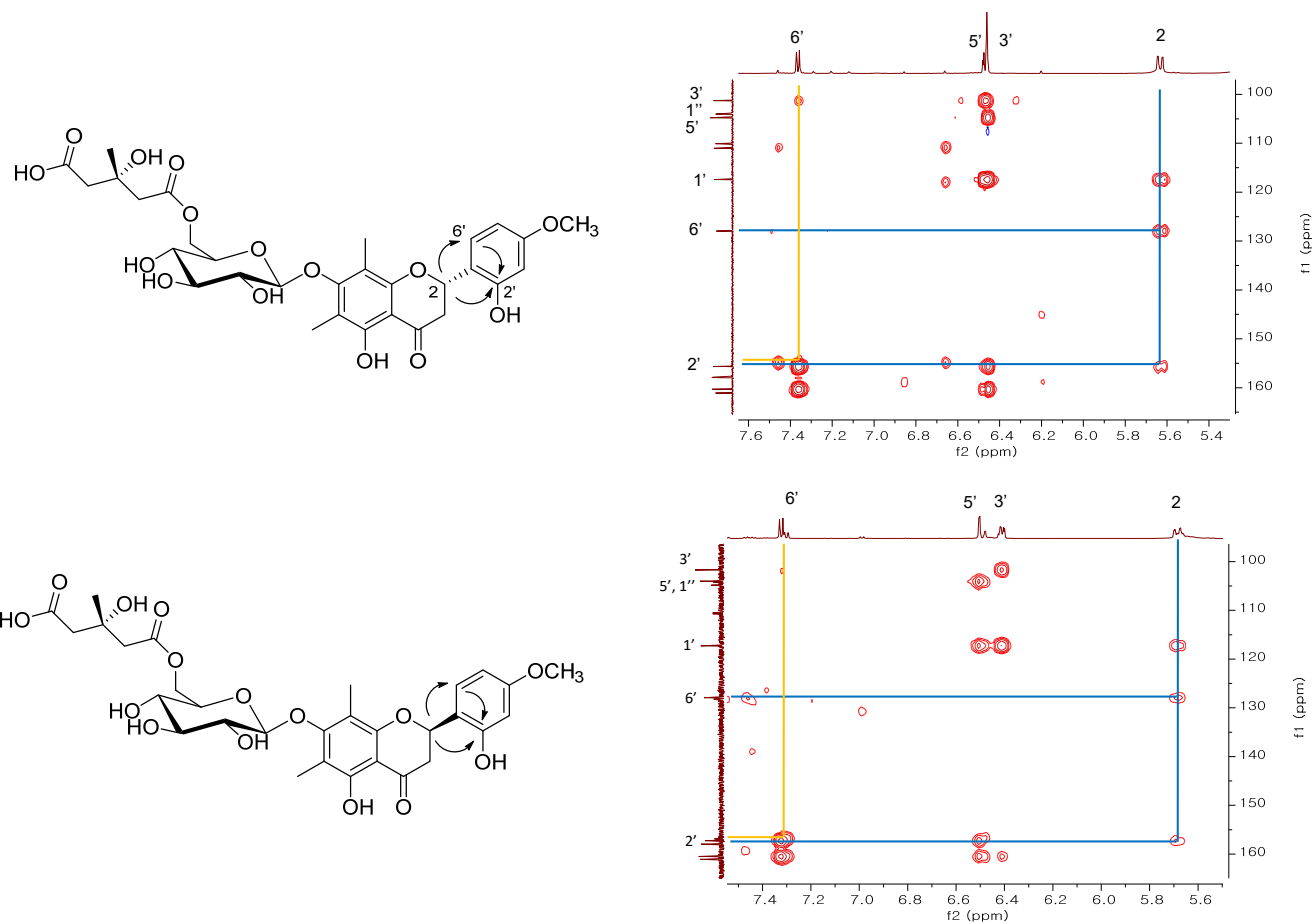


Figure 23. HMBC spectrum of compounds 5 and 6

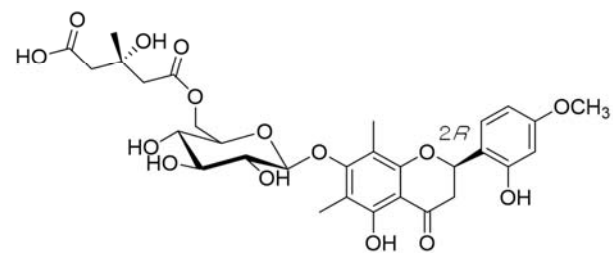
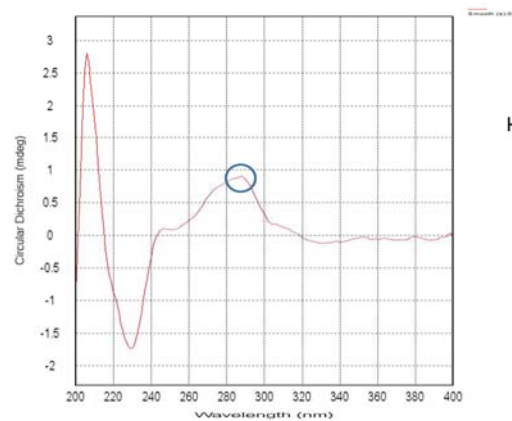
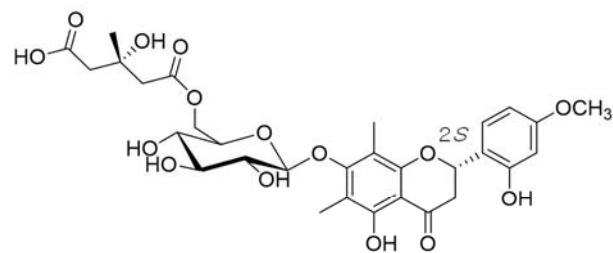
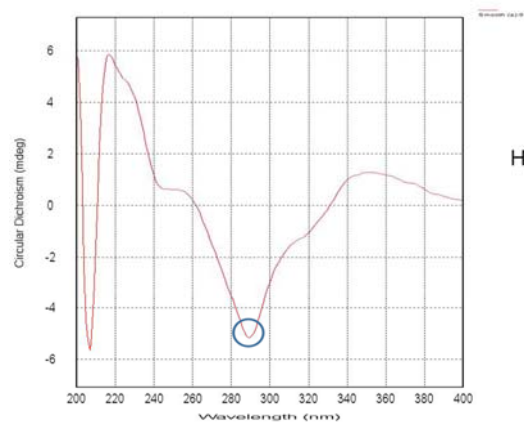


Figure 24. ECD spectrum of compounds 5 (above) and 6 (below)

3.1.5 화합물 7

화합물 7은 노란 무정형의 분말로 HRESIMS 를 통하여 $C_{30}H_{36}O_{15}$ 의 분자식을 알 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR 을 통하여 화합물 7은 화합물 5와 6과 상당히 비슷하였다. 다만, flavonoid B-ring 에서 수소 치환패턴의 차이를 보였는데, 화합물 5와 6은 1,2,4-삼중치환을 보인 반면, 화합물 7은 그와는 다른 삼중치환패턴 [δ_H 6.82 (d, $J = 8.8$ Hz, H-3'), 6.79 (dd, $J = 9.0, 2.8$ Hz, H-4'), 7.03 (d, $J = 2.9$ Hz, H-6')]을 보였다. 이를 규명하기 위하여 HMBC spectrum으로 확인해본 결과, flavonoid B-ring 의 4' (δ_H 6.79)과 2' (δ_C 148.1), 6' (δ_C 112.2) 의 상호작용, 3' (δ_H 6.82)와 5' (δ_C 152.1), 1' (δ_C 125.7) 의 상호작용들을 통하여 1,2,5-삼중치환임을 확인 할 수 있었다. 또한, 이 화합물에서 HMG 잔기가 없는 Myrciacitrin II (20)와의 flavonoid B-ring 의 수소치환패턴이 동일하여 1,2,5-삼중치환패턴임을 다시한번 확인 할 수 있었다. 위의 결과들을 종합하여 화합물 7을 (2*S*)-methoxymatteucinol-7-*O*-[6''-*O*-((*S*)-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl)]- β -D-glucopyranoside 로 결정하였고, matteuorientate J 로 명명하였다.

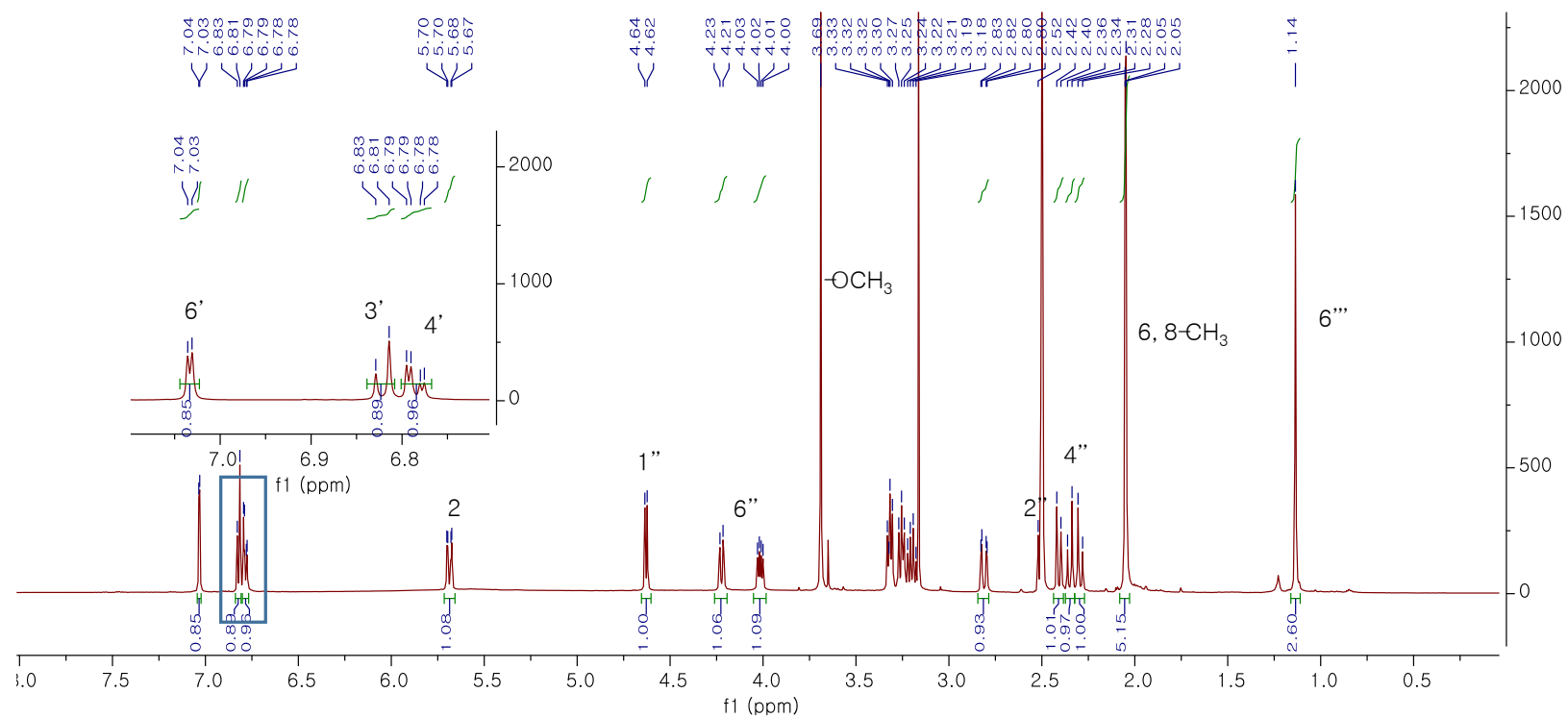


Figure 25. ¹H NMR spectrum of compound 7

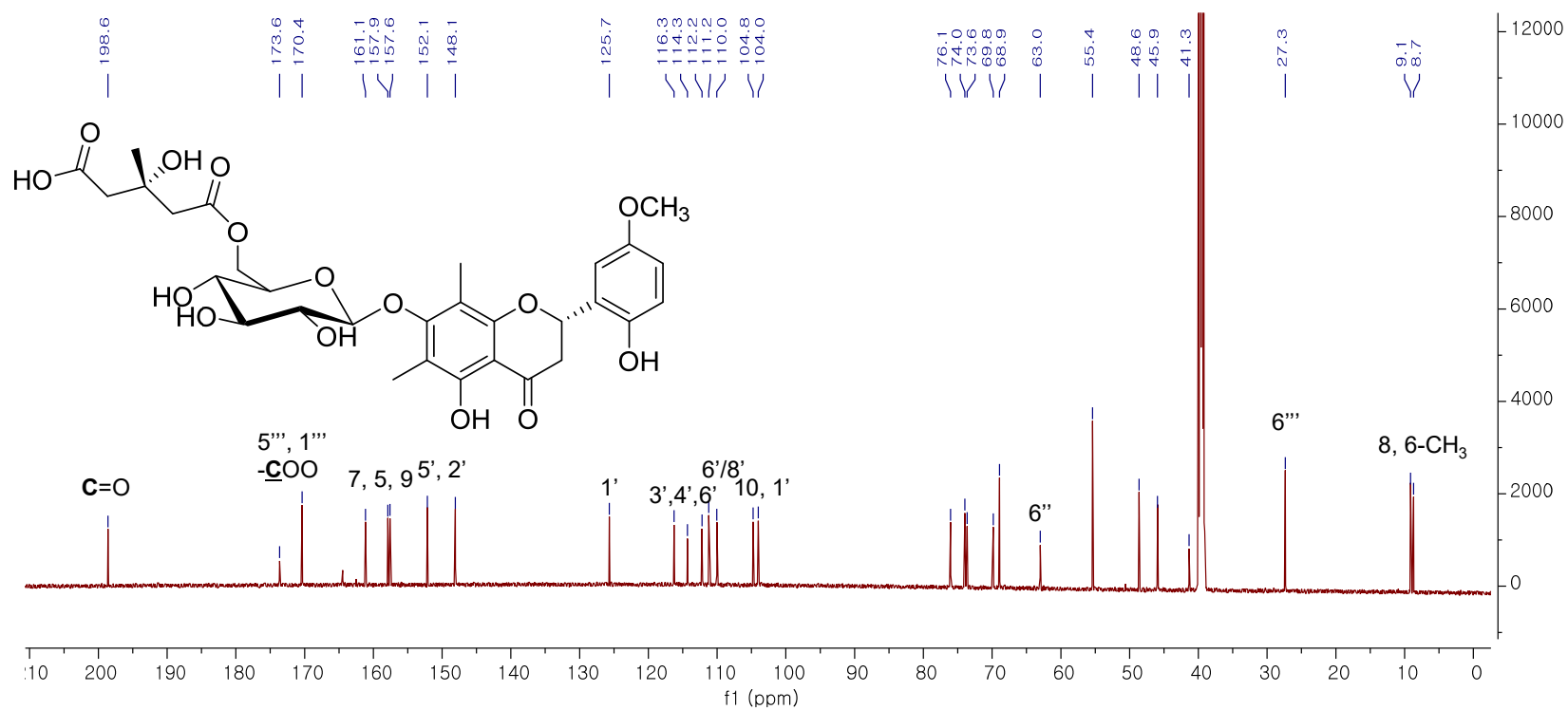


Figure 26. ^{13}C NMR spectrum of compounds 7

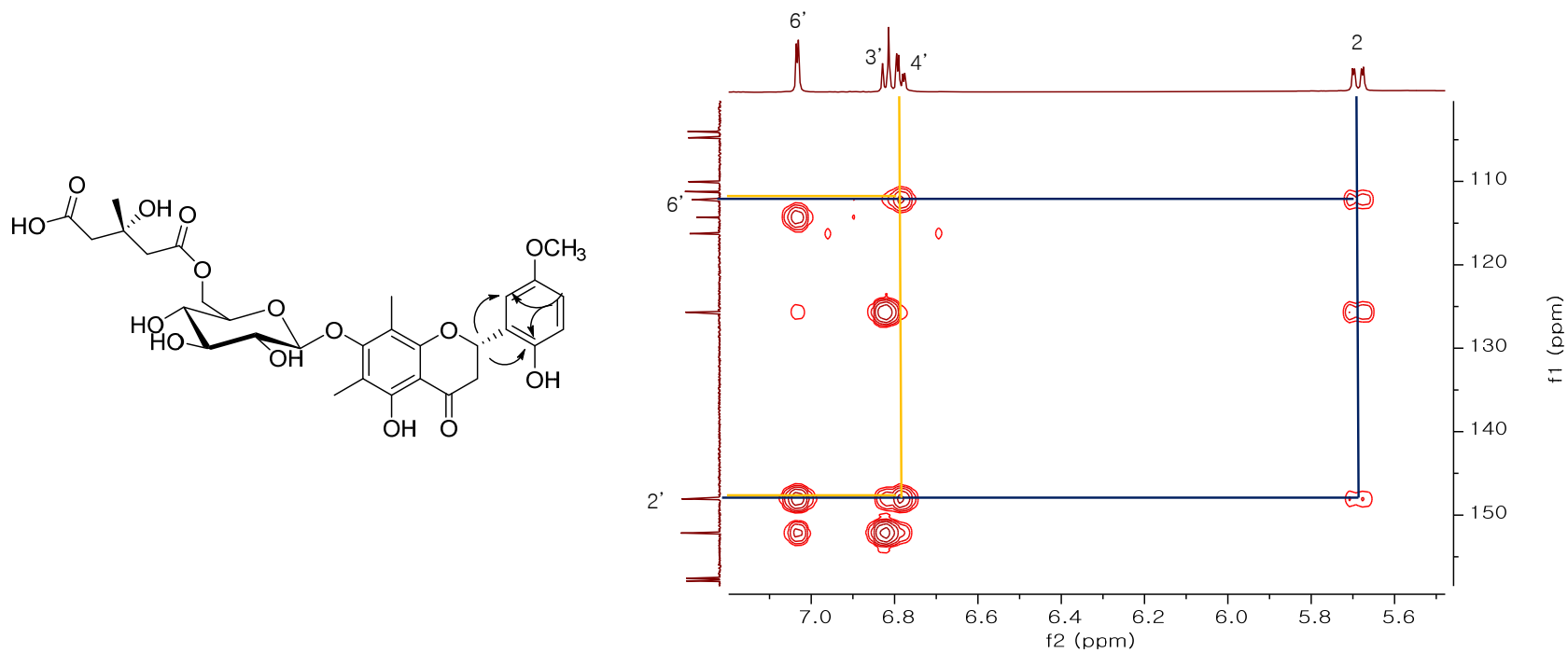


Figure 27. HMBC spectrum of compound 7

3.1.6 화합물 8

화합물 8은 $C_{29}H_{34}O_{14}$ 를 가지는 노란 무정형의 분말로, 그 분자식은 HRESIMS를 통하여 측정하였다. 1H 와 ^{13}C NMR 상에서 flavonoid B-ring의 수소들이 [δ_H 7.44 (d, $J = 8.6$ Hz, H-6'), 7.18 (m, H-4'), 6.91 (d, $J = 8.1$ Hz, H-2'), 6.85 (t, $J = 7.5$ Hz, H-5')]의 값을 나타내 1,2-이중치환된 aromatic ring임을 알 수 있었으며, 화합물 5-7과 비슷한 한 개의 glucose 와 당의 6번에 연결된 HMG 잔기를 알 수 있었다. COSY 와 HMBC를 통하여 flavonoid B-ring의 수소치환패턴, 2' 위치의 hydroxyl 기를 확인할 수 있었다. 또한, matteucin (23), 화합물 9와의 비교를 통하여 구조를 다시한번 파악 할 수 있었다. 위의 결과들을 토대로 화합물 8을 (2*S*)-matteucin-7-O-[6''-O-((*S*)-3-hydroxy-3-methylglutaryl)]- β -D-glucopyranoside로 결정하고, matteuorientate K로 명명하였다.

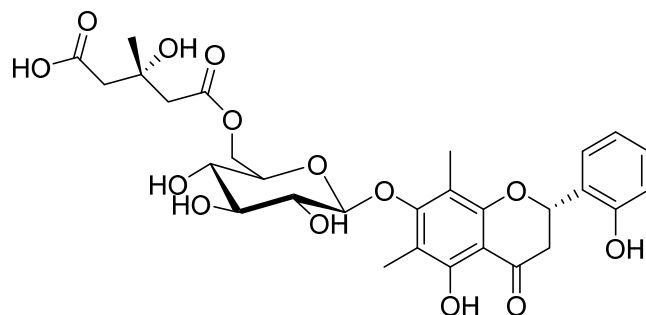


Figure 28. Chemical structures of compound 8

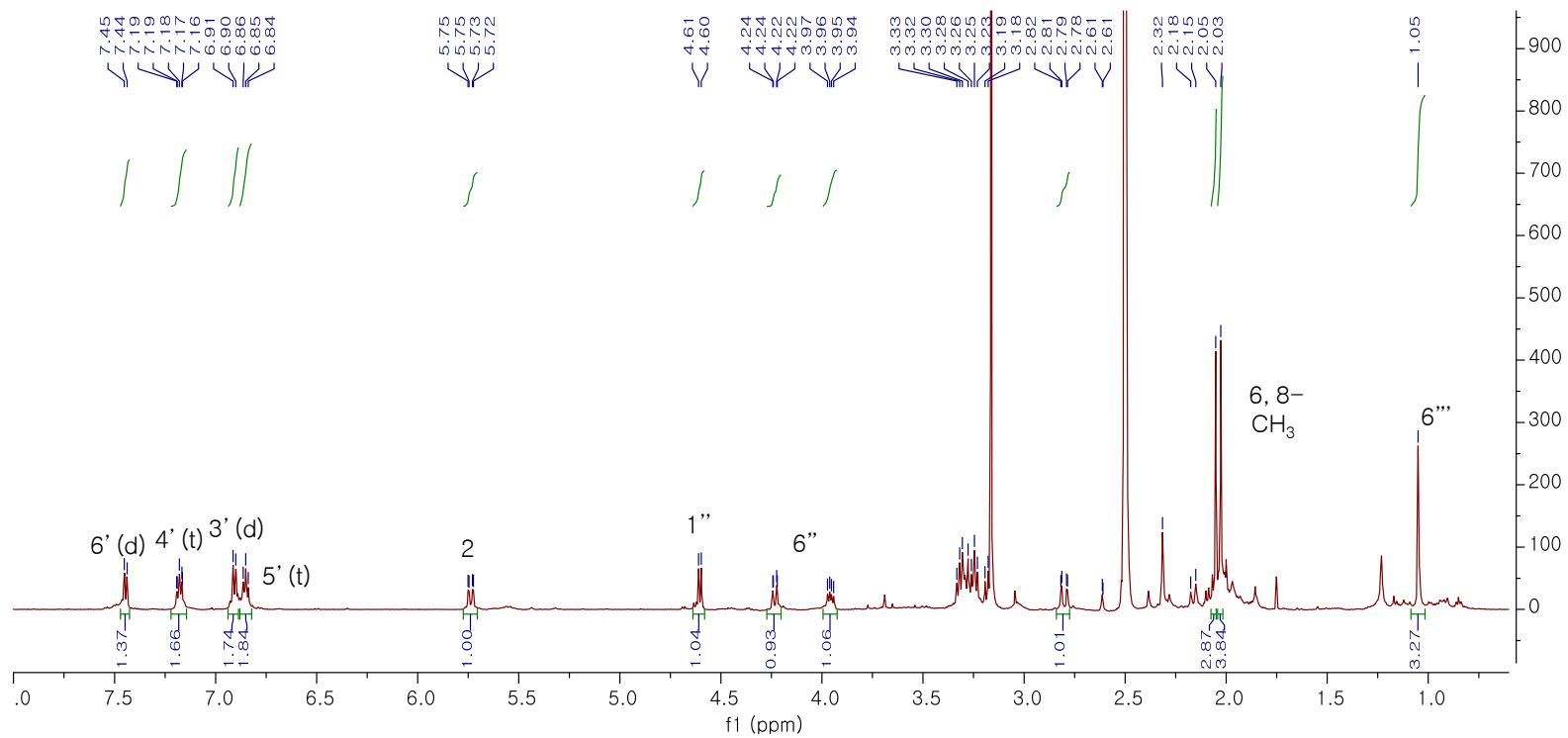


Figure 29. ¹H NMR spectrum of compound 8

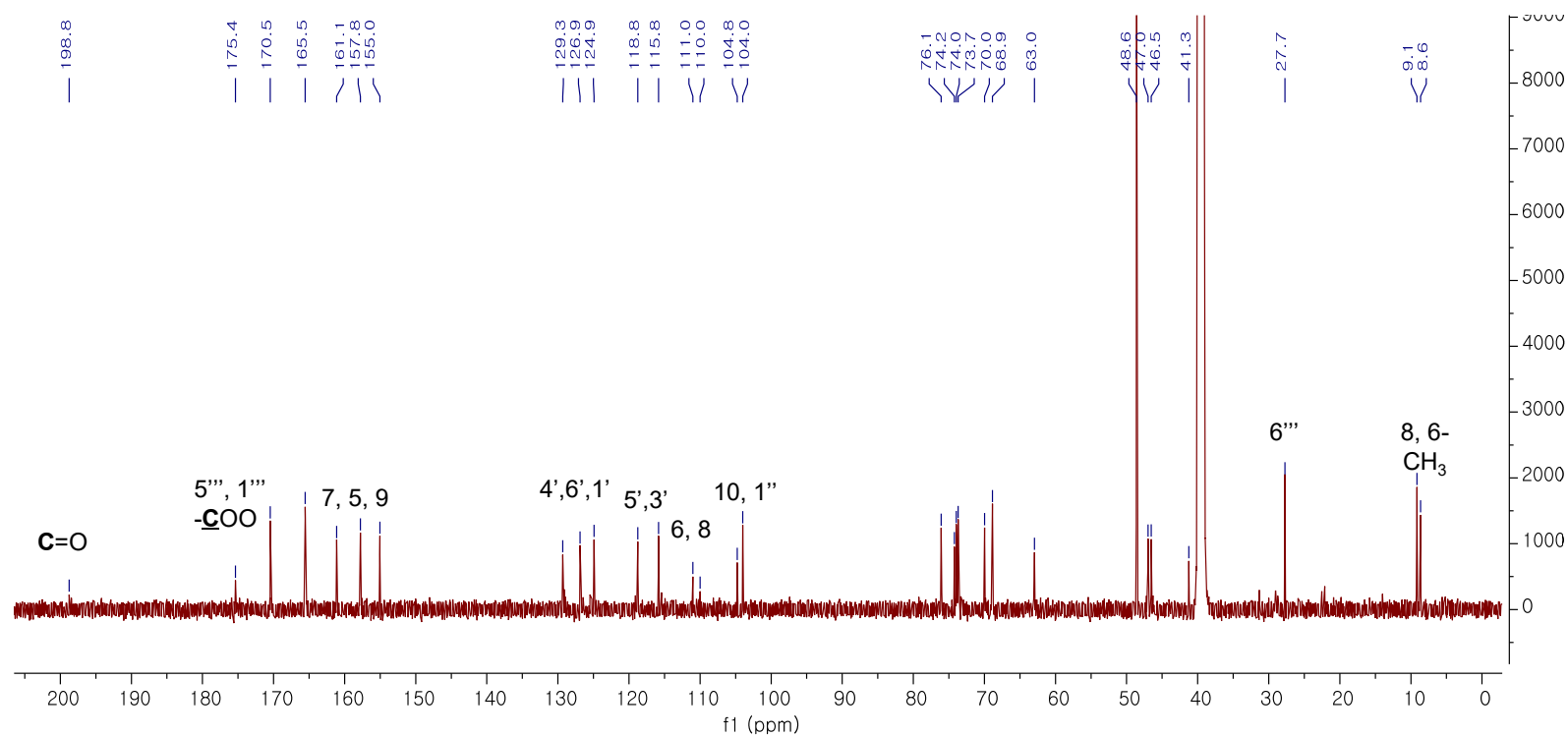


Figure 30. ^{13}C NMR spectrum of compound 8

3.1.7 화합물 9

화합물 9는 $C_{23}H_{26}O_{10}$ 의 분자식을 가지며 HRESIMS 의 측정을 통하여 negative mode 에서 m/z 461.1446 $[M-H]^-$ (calcd for 461.1448) 의 값을 확인하였다. 화합물 1-8과는 달리 HMG 잔기가 없다는 것을 1H 와 ^{13}C NMR 을 통하여 확인 할 수 있었으며, flavonoid B-ring 의 패턴 [δ_H 7.46 (dd, $J = 7.6, 1.7$ Hz, H-6'), 7.18 (td, $J = 7.7, 1.7$ Hz, H-4'), 6.89 (dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, H-2'), 6.88 (td, $J = 8.1, 1.8$ Hz, H-5')]을 통하여 1,2-이중치환 aromatic ring 임을 확인하였다. 이는 화합물 8과 매우 유사하여 구조를 쉽게 결정할 수 있었다. 다만, ECD spectrum 측정을 통하여 283 nm 에서 positive Cotton effect를 보여 탄소 2번의 configuration 이 (2*R*) 임을 확인 할 수 있었다. 이상의 결과를 종합하여 화합물 9를 (2*R*)-Matteucin 7-*O*- β -D-glucopyranoside로 결정하였다.

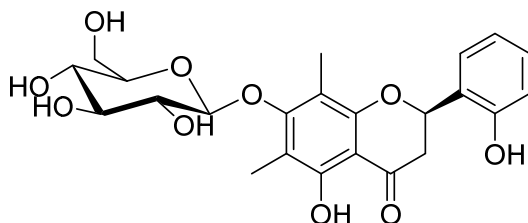


Figure 32. Chemical structure of compound 9

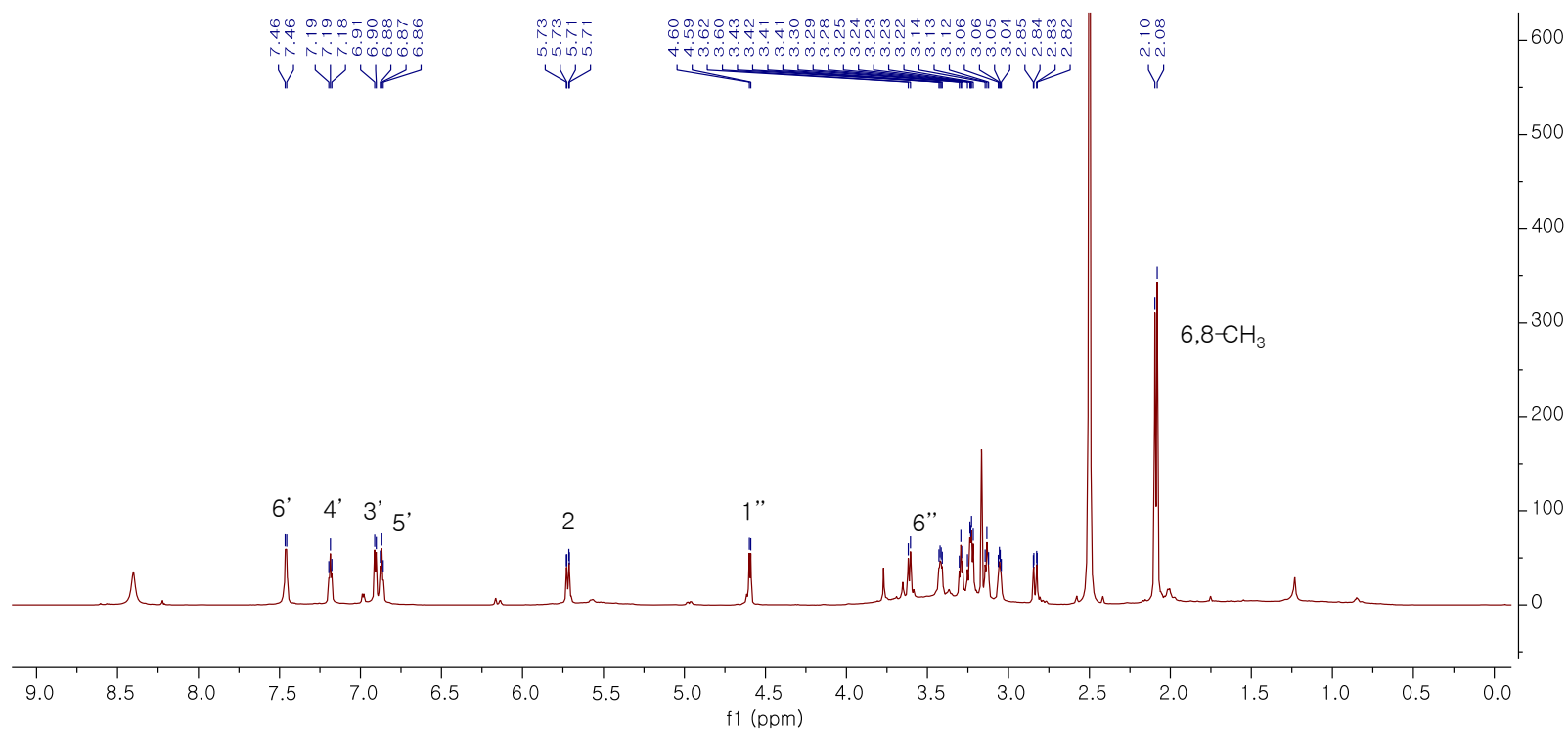


Figure 33. ¹H NMR spectrum of compound 9

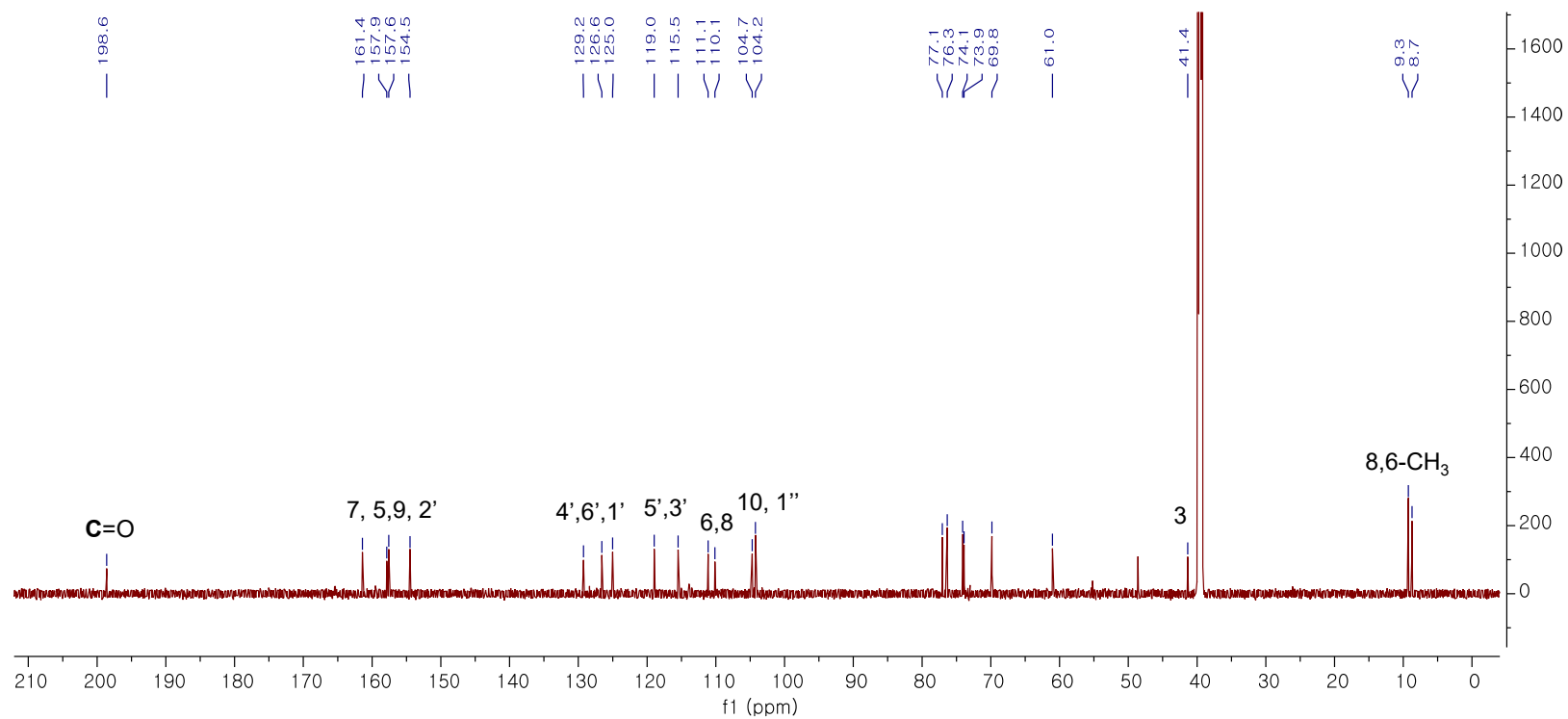


Figure 34. ¹³C NMR spectrum of compound 9

3.1.8 화합물 10

화합물 10은 HRESIMS 측정을 통하여 $C_{25}H_{24}O_9$ 의 분자식을 가지는 물질임을 알 수 있었다. 또한, UV spectrum 을 통하여 247, 280, 349 nm 에서 극댓값을 나타내, flavanone이 아닌 2, 3번에 이중결합이 생긴 flavone 또는 flavonol 의 구조임을 예상할 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR 을 통하여 단일치환된 aromatic ring [δ_H 8.12 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, H-2', 6'), 7.62 (m, H-3', 4', 5')] 과, [δ_H 7.10 (s, H-3)] 을 통하여 화합물 10 이 flavone 골격임을 확인 할 수 있었다. 하나의 anomeric 수소 [δ_H 4.66 (d, $J = 7.7$ Hz, H-1'')] 를 통하여 당의 존재를 알 수 있었고, flavonoid a-ring의 6, 8번 위치에 결합되어있는 두 개의 C-methyl (δ_H 2.45, 2.20) 또한 확인 할 수 있었다. 위의 결과들을 토대로 얻은 구조를 HMG 잔기를 포함하고있는 matteuorientate C (16)와 비교하였을 때, HMG를 제외한 구조들의 NMR 값이 유사한 것을 확인 할 수 있었다. 다음의 결과들을 종합하여 화합물 10을 matteuorientate 7-O- β -D-glucoside로 결정하였다.

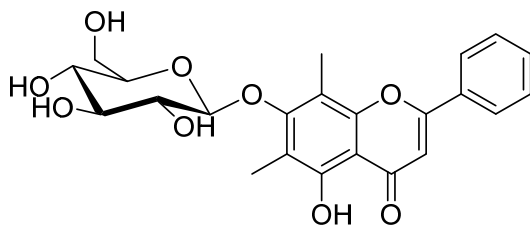


Figure 35. Chemical structures of compound 10

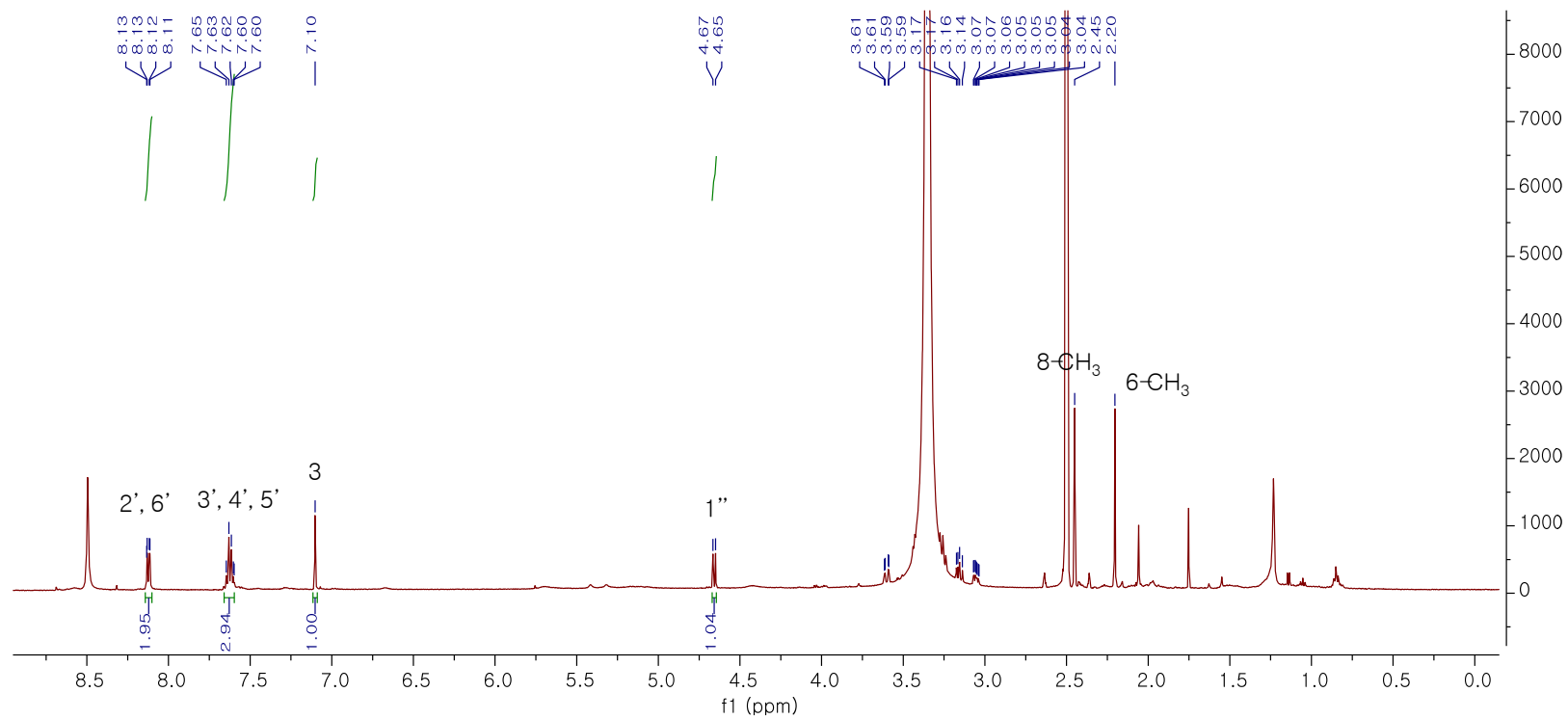


Figure 36. ¹H NMR spectrum of compound 10

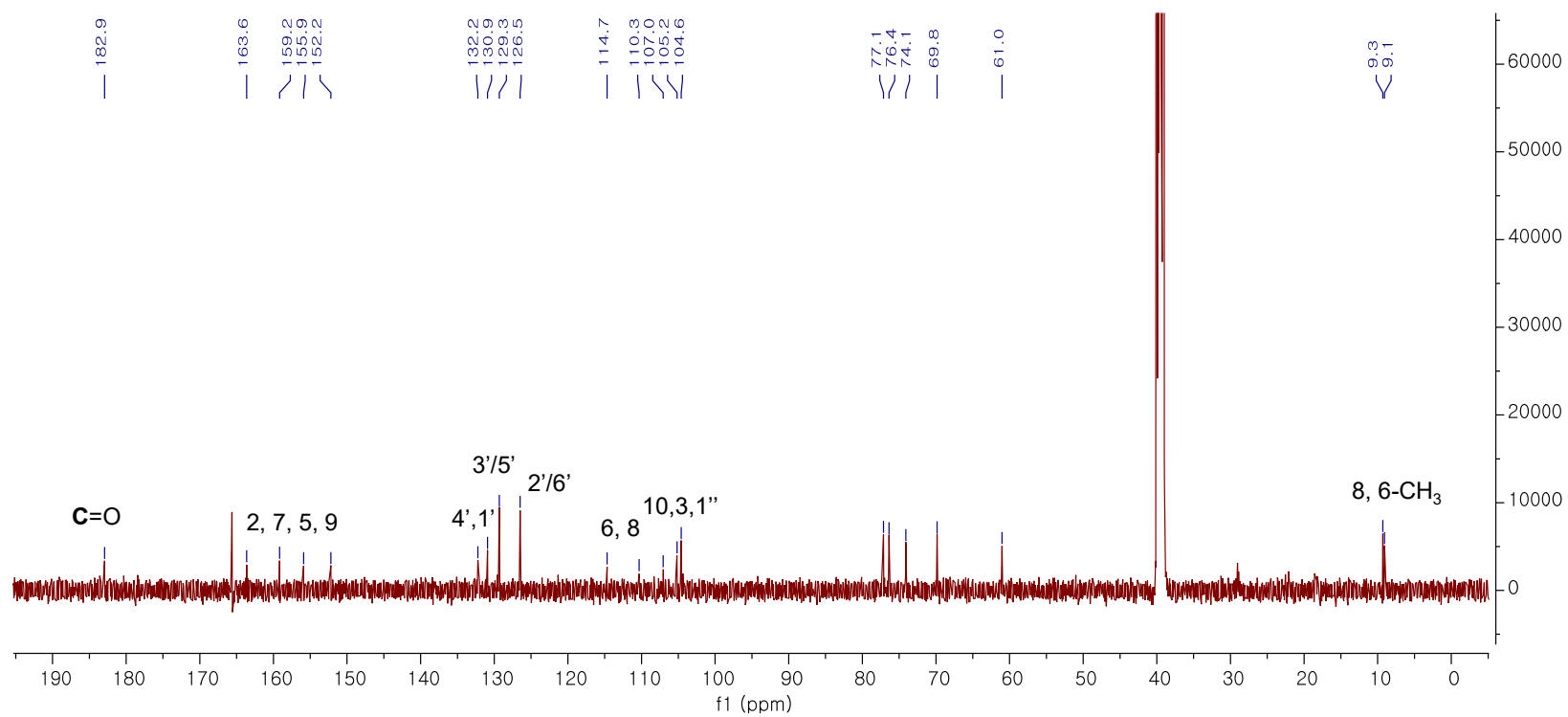


Figure 37. ¹³C NMR spectrum of compound 10

3.1.9 화합물 11

화합물 11은 노란 무정형의 분말로 HRESIMS 측정을 통하여 negative mode 에서 m/z $[M - H]^-$ 577.1920 (calcd for 577.1921)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{28}H_{34}O_{13}$ 이다. 화합물 11은 mattheurienin (17)과 유사한 1H 와 ^{13}C NMR data를 보였다. Flavonoid B-ring 에서 $[\delta_H 7.56$ (d, $J = 7.4$ Hz, H-2', 6'), 7.45 (t, $J = 7.5$ Hz, H-3', 5') 7.39 (t, $J = 7.3$ Hz, H-4')] 패턴을 통하여 단일치환된 aromatic ring 임을 알 수 있었으며, 두 개의 anomeric 수소 $[\delta_H 5.13$ (s, H-1'''), 4.70 (d, $J = 9.8$ Hz, H-1'')]와 한 개의 methyl 기 (δ_H 1.94)를 확인 할 수 있었다. 하나의 당은 특징적인 $[\delta_H 0.58$ (d, $J = 6.2$ Hz, H-6''')]을 통하여 rhamnose 임을 예상 할 수 있었고, 또 하나의 당은 J value가 9.8 Hz 인것을 통하여 O-배당체가 아닌 C-배당체임을 예상하고, 문헌치를 통하여 flavonoid 의 8번 위치에 연결된 C-glucose 임을 확인 할 수 있었다. (Markham et al., 1994) 또한 MS/MS를 통하여 120 (m/z 457.1488), 164 (m/z 413.1231 $[M - C_6H_{10}O_4 - H_2O - H]^-$, 266 (m/z 311.0912 $[M - 120 - C_6H_{10}O_4 - H]^-$, 284 (m/z 293.0807 $[M - C_6H_{10}O_4 - H_2O - 120 - H]^-$ 을 나타내는 매스 조각 값들을 통하여 rhamnose 의 매스 조각 값과 C-hexose가 flavonoid에 연결되었을 경우 120 의 매스 조각 값이 나타나는 것을 확인하여 C-배당체임을 다시한번 확인 할 수 있었다. HMBC spectrum 을 통하여 (δ_H 5.13) 와 (δ_C 75.5)의 상호작용을 통하여 rhamnose 와 C-glucose 의 연결위치를 확인 할 수 있었으며, (δ_H 4.70)과 (δ_H 103.4)를 통하여 8번위치에 C-glucose 가 연결되어 있음을 다시한번 알 수 있었다. 모든 결과를 종합하여 화합물 11을 (2S)-6-methylpinocembrin-8-C-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranoside 로 결정하였으며, mattheurienin B로 명명하였다.

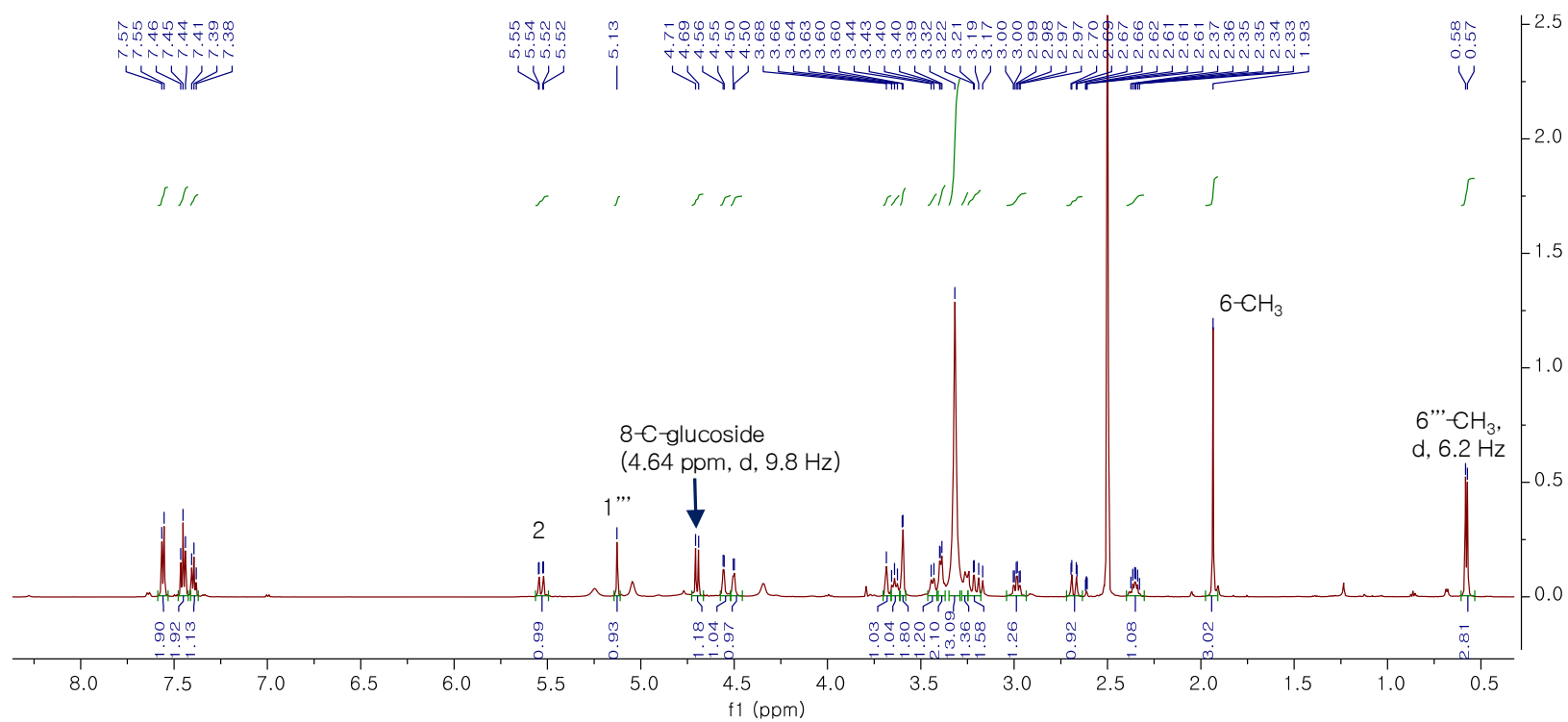


Figure 38. ¹H NMR spectrum of compound 11

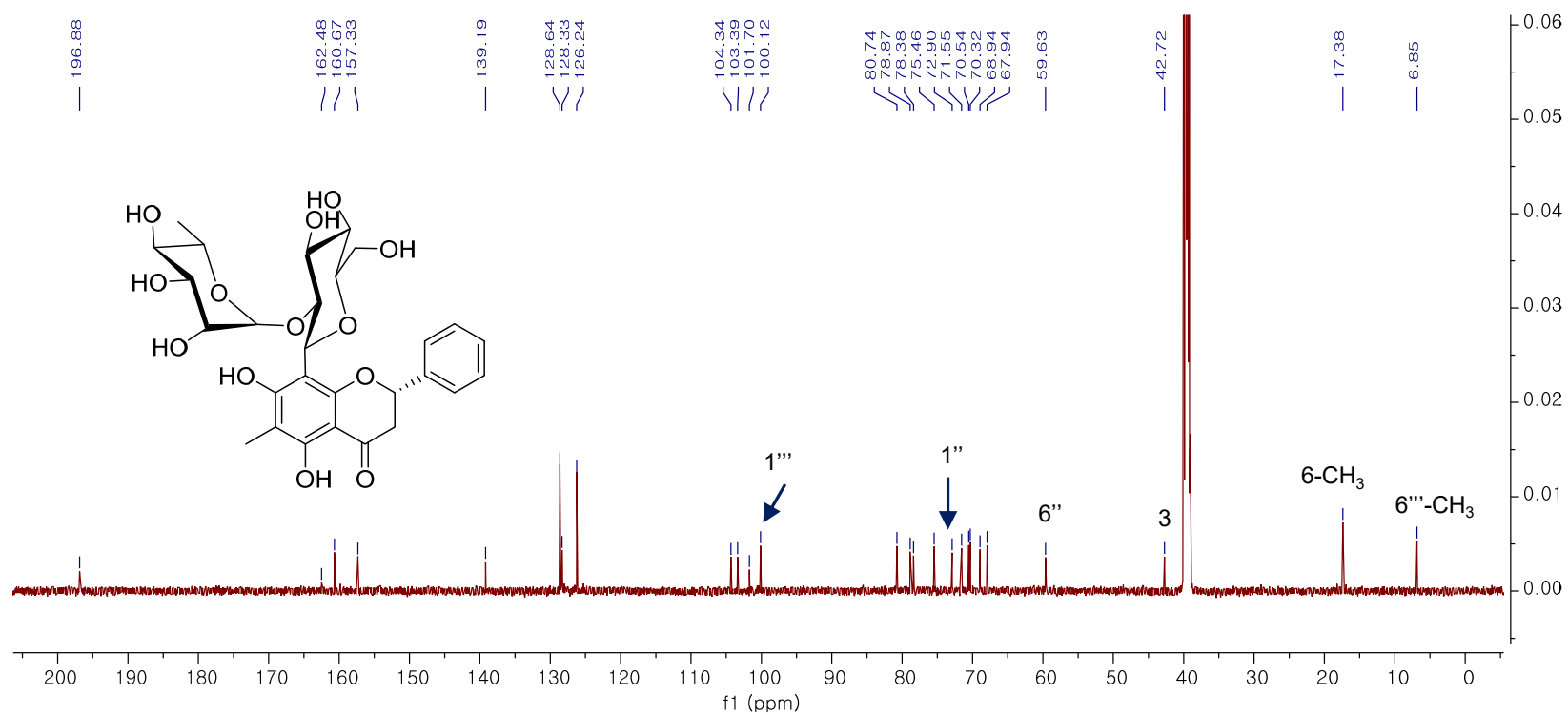


Figure 39. ¹³C NMR spectrum of compound 11

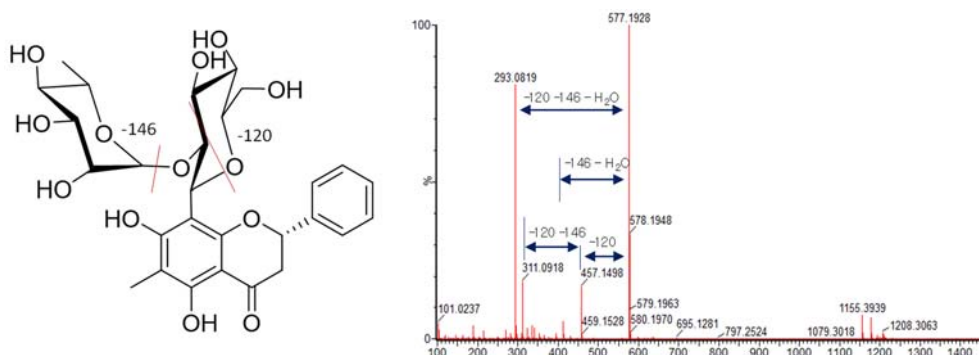


Figure 40. MS/MS of compound 11

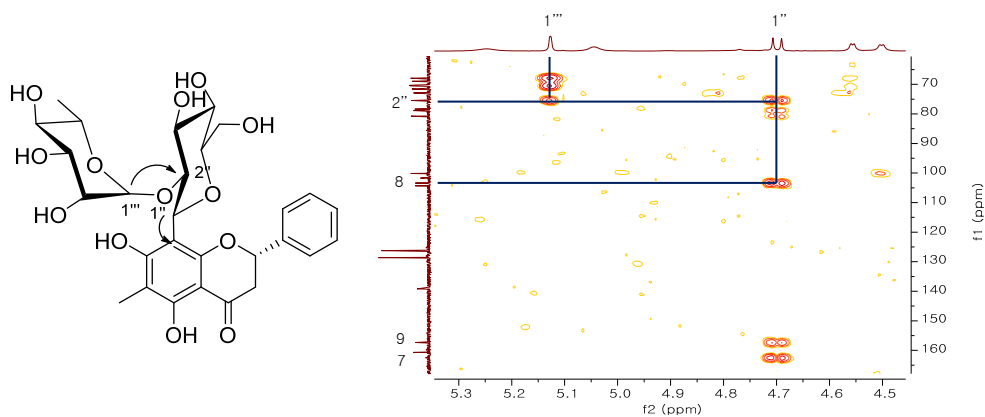


Figure 41. HMBC spectrum of compound 11

3.1.10 화합물 12

화합물 12는 HRESIMS 측정을 통하여 $C_{28}H_{34}O_{14}$ 의 분자식을 확인하였으며, 화합물 11과 비교하였을 때, hydroxyl 기가 하나 더 있을 것으로 예상하였다. 화합물 11과 마찬가지로 MS/MS 에서 120 (m/z 473.1458), 164 (m/z 429.1191 $[M - C_6H_{10}O_4 - H_2O - H]^-$), 266 (m/z 327.0873 $[M - 120 - C_6H_{10}O_4 - H]^-$), 284 (m/z 309.0767 $[M - C_6H_{10}O_4 - H_2O - 120 - H]^-$)의 값을 확인하여 C-hexose와 rhamnose 가 존재할 것이라 예상할 수 있었다. 1H 와 ^{13}C 에서 각 당의 anomeric 수소 [δ_H 5.10 (d, $J = 1.1$ Hz, H-1'''), 4.64 (d, $J = 9.8$ Hz, H-1'')]를 확인할 수 있었으며, 1,4-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.36 (d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.81 (d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5')]의 존재를 알 수 있었다. HMBC spectrum에서 (δ_H 5.10) 와 (δ_C 75.6)을 통해 당 사이의 연결 고리를, (δ_H 4.64)와 (δ_H 103.3)을 통해 8번 위치의 C-glucose를 확인 할 수 있었다. 이상의 결과로 화합물 12를 (2*S*)-6-methyl-naringenin-8-*C*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranoside 로 결정하였으며, matteuorienin C 로 명명하였다.

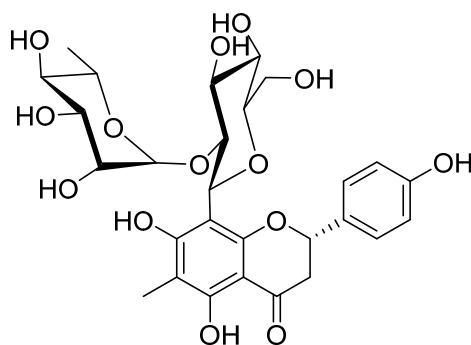


Figure 42. Chemical structure of compound 12

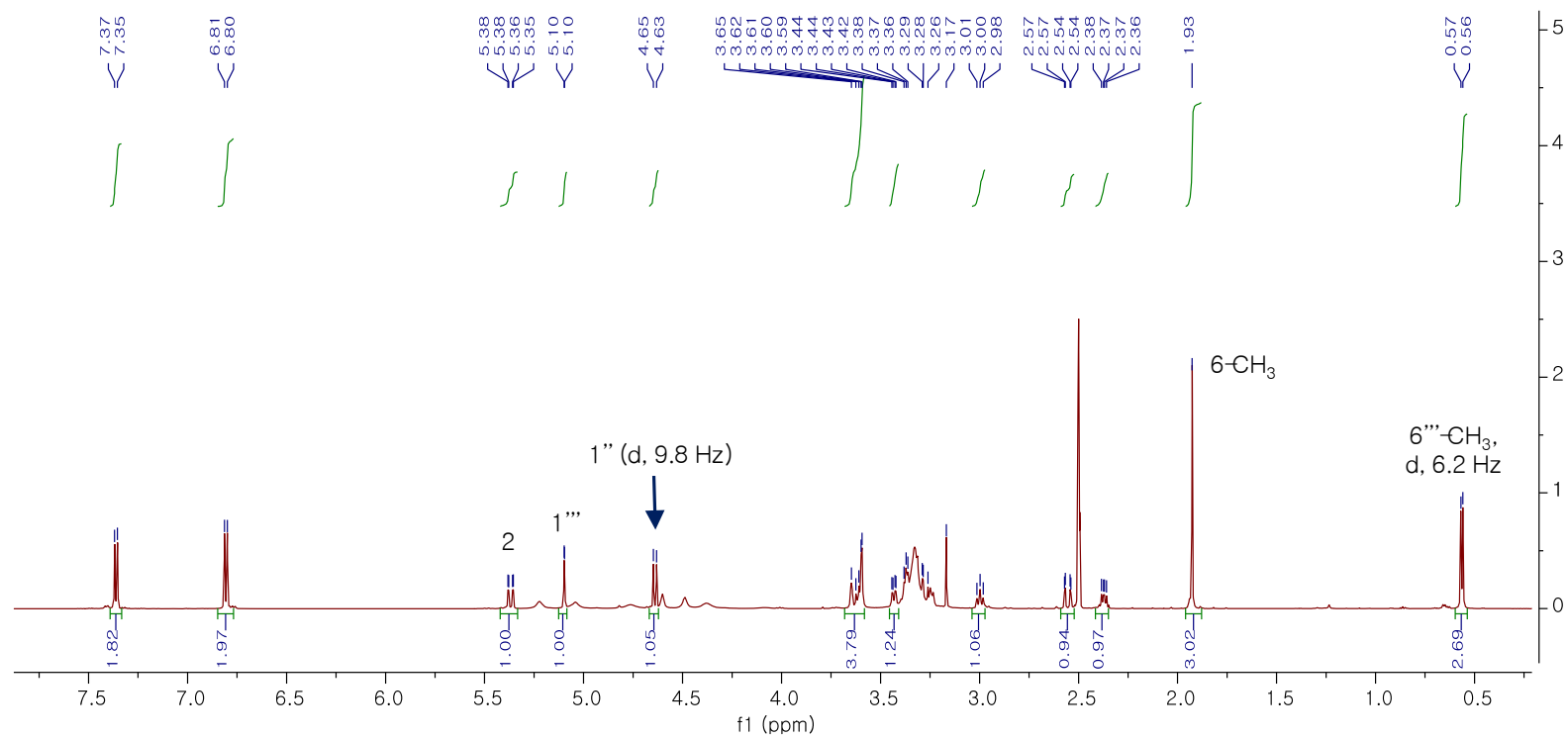


Figure 43. ¹H NMR spectrum of compound 12

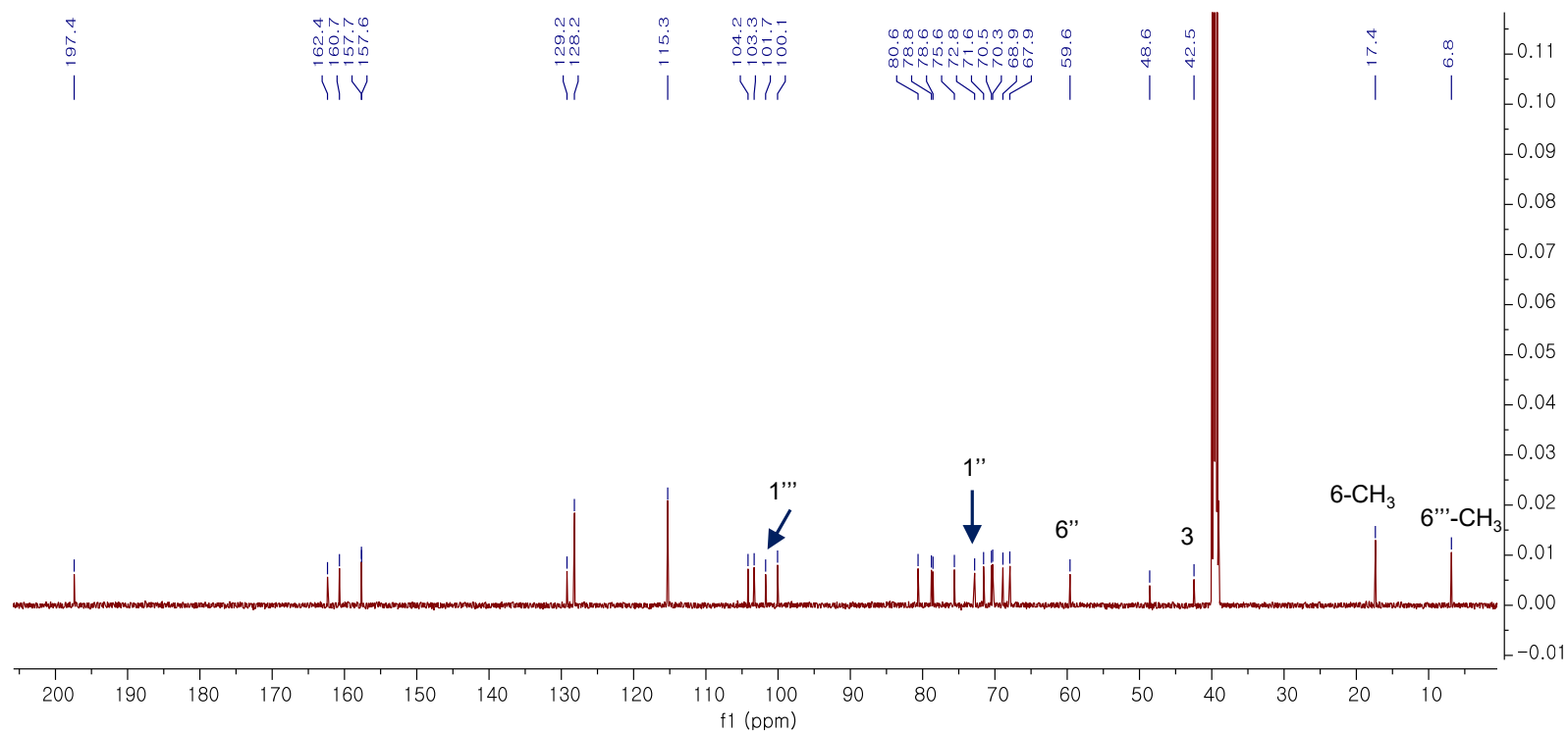


Figure 44. ^{13}C NMR spectrum of compound 12

3.1.11 화합물 13

화합물 13은 HRESIMS를 통하여 분자식을 $C_{29}H_{36}O_{14}$ 로 구할 수 있었으며, 화합물 12 보다 methoxy 가 하나 더 존재하는 것을 분자식을 통하여 유추할 수 있었다. C-hexose 와 rhamnose의 존재를 MS/MS 에서 120 (m/z 487.1609), 164 (m/z 443.1347 $[M - C_6H_{10}O_4 - H_2O - H]^-$), 266 (m/z 341.1028 $[M - 120 - C_6H_{10}O_4 - H]^-$), 284 (m/z 323.0927 $[M - C_6H_{10}O_4 - H_2O - 120 - H]^-$)의 값들을 통하여 확인 할 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR을 통하여 각 당의 anomeric 수소 [δ_H 5.11 (br s, H-1'''), 4.66 (d, $J = 9.8$ Hz, H-1'')]를 확인 할 수 있었으며, 1,4-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.49 (d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.00 (d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5')]의 존재를 알 수 있었다. Methoxy의 위치는 HMBC를 통하여 δ_H 3.79 와 δ_C 159.3 의 상호작용을 통해 flavonoid b-ring 의 4' 위치에 존재함을 확인 할 수 있었으며, (δ_H 5.11) 과 (δ_C 75.6)을 통해 당 사이의 연결 고리를, (δ_H 4.66) 과 (δ_H 103.4)를 통해 8 번 위치의 C-glucose를 확인 할 수 있었다.

이상의 결과들을 종합하여, 화합물 13을 (2*S*)-6-methyl-isosakuranetin-8-*C*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranoside로 결정하였으며, matteuorienin D 로 명명하였다.

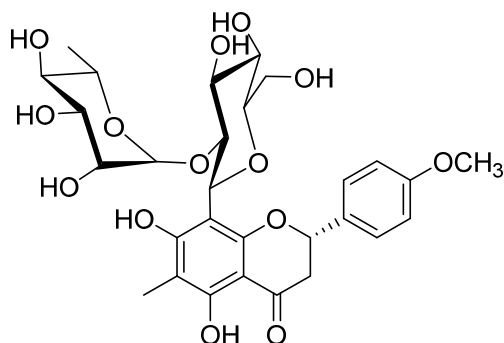


Figure 45. Chemical structure of compound 13

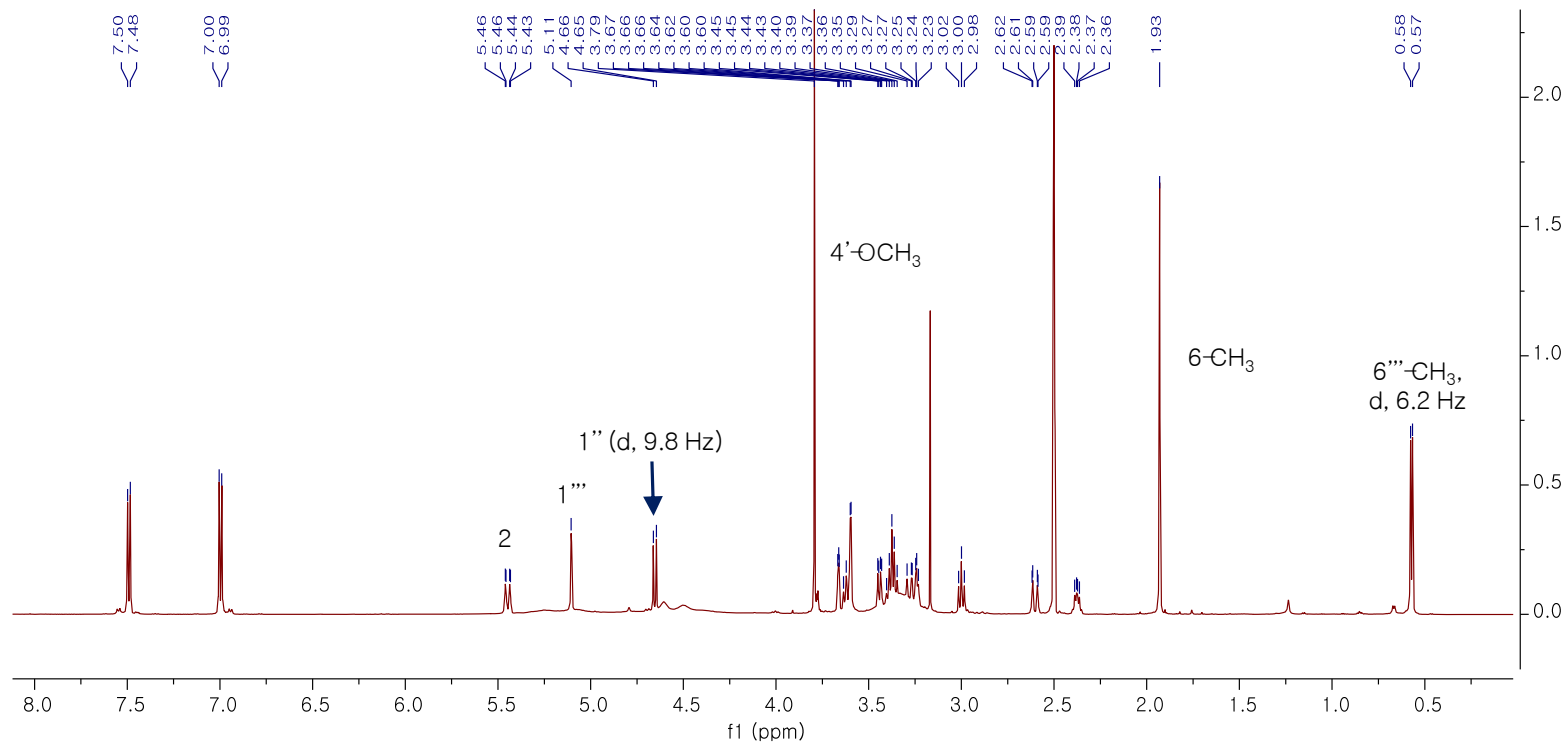


Figure 46. ¹H NMR spectrum of compound 13

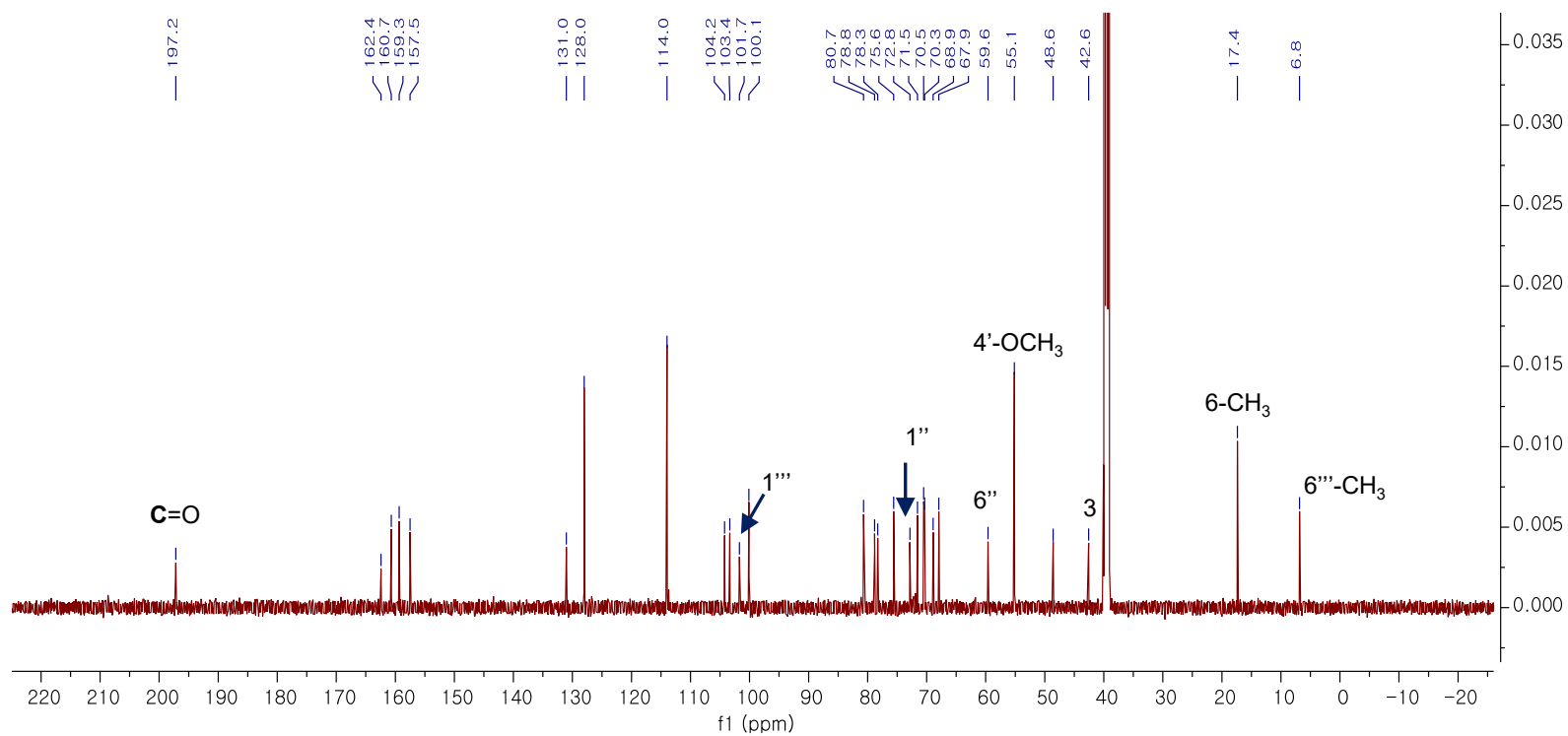


Figure 47. ¹³C NMR spectrum of compound 13

3.1.12 화합물 14, 15

화합물 14는 노란 무정형 분말로 HRESIMS 측정을 통하여 분자식은 $C_{30}H_{36}O_{14}$ 로 얻었으며, negative mode 에서 m/z 619.2029 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{35}O_{14}$, 619.2027) 의 값을 나타낸다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,4-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.46 (d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.99 (d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5')]을 가지며 두 개의 C-methyl 기 (δ_H 2.05, 2.02)를 가지는 flavonoid 모핵을 확인하였고, 한 개의 anomeric 수소 [δ_H 4.62 (d, $J = 7.5$ Hz, H-1'')]를 통하여 당의 존재를 예측할 수 있었다. 또한, HMG 잔기(δ_C 172.5, 170.2, 68.9, 45.6, 45.4)로 예상되는 탄소들을 확인 할 수 있었으며, 당의 6번 수소 (δ_H 4.21, 4.03)가 downfield로 이동되어있는 것을 통하여 HMG 잔기가 6번위치에 결합되어있을 것이라 예상할 수 있었다. 이 결과들을 종합하여 화합물 14를 matteuorientate A 로 동정하였다. (Kadota et al., 1994)

화합물 15는 노란 무정형 분말로 HRESIMS 측정을 통하여 분자식은 $C_{29}H_{34}O_{13}$ 로 얻었으며, negative mode 에서 m/z 589.1926 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{29}H_{33}O_{13}$, 589.1921) 의 값을 나타낸다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 단일치환된 aromatic ring [δ_H 7.51 (d, $J = 7.5$ Hz, H-2'), 7.41 (t, $J = 7.6$ Hz, H-3', 5'), 7.35 (t, $J = 7.3$, H-4')]을 가지며, 두 개의 C-methyl기 (δ_H 2.02, 2.01)를 가지는 flavonoid 모핵을 알 수 있었다. 한 개의 anomeric 수소 [δ_H 4.59 (d, $J = 7.7$ Hz, H-1'')]를 통하여 하나의 당이 존재함을 예상할 수 있었다. 또한, HMG 잔기(δ_C 172.4, 170.3, 69.4, 45.5, 45.4)로 예상되는 탄소들을 확인 할 수 있었다. Aglycone, 당, HMG 잔기들은 HMBC spectrum 을 통하여 그 위치들을 각각 aglycone 의 7번, 당의 6번 위치와 연결되어있음을 알 수 있었으며, 이 결과들을 토대로 화합물 15를 matteuorientate B 로 동정할 수 있었다. (Kadota et al., 1994)

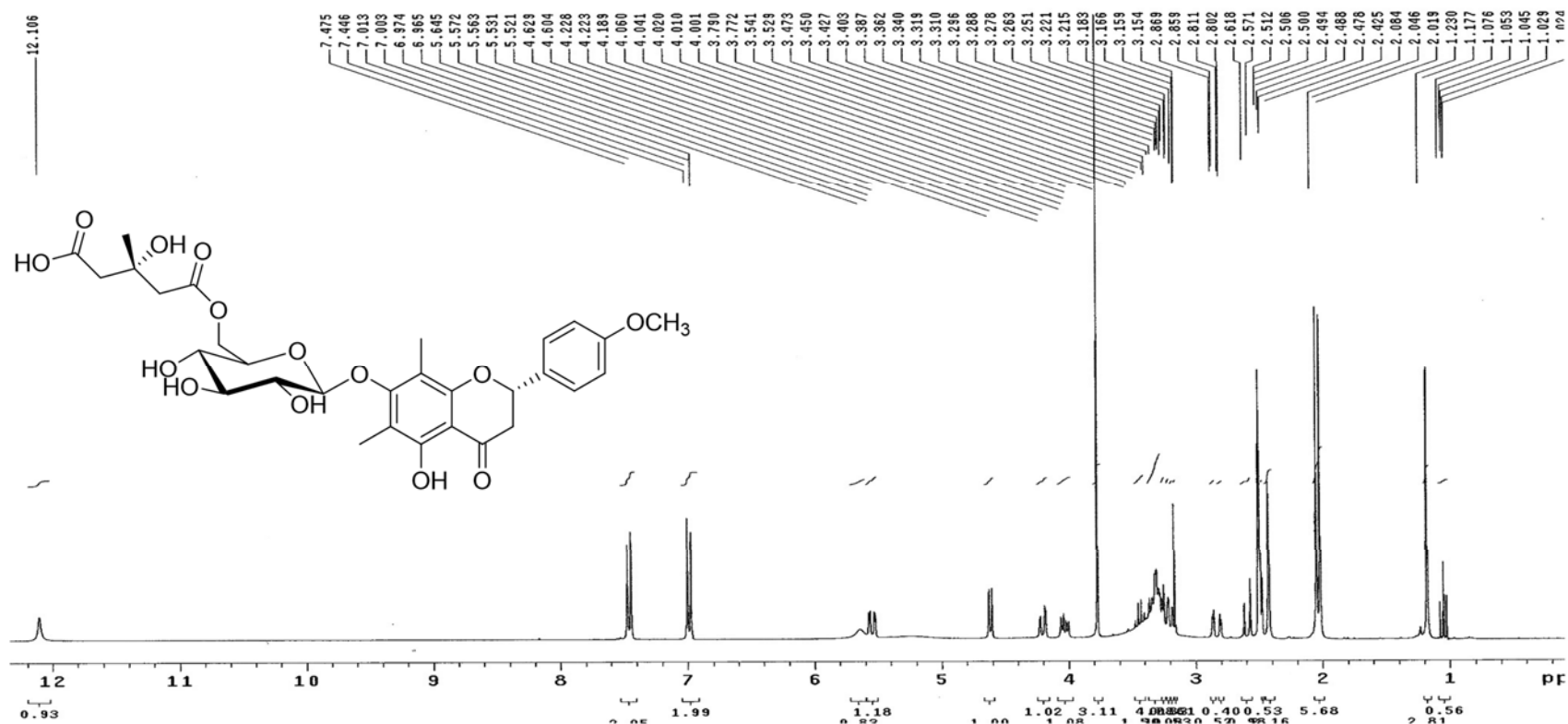


Figure 48. ¹H NMR spectrum of compound 14

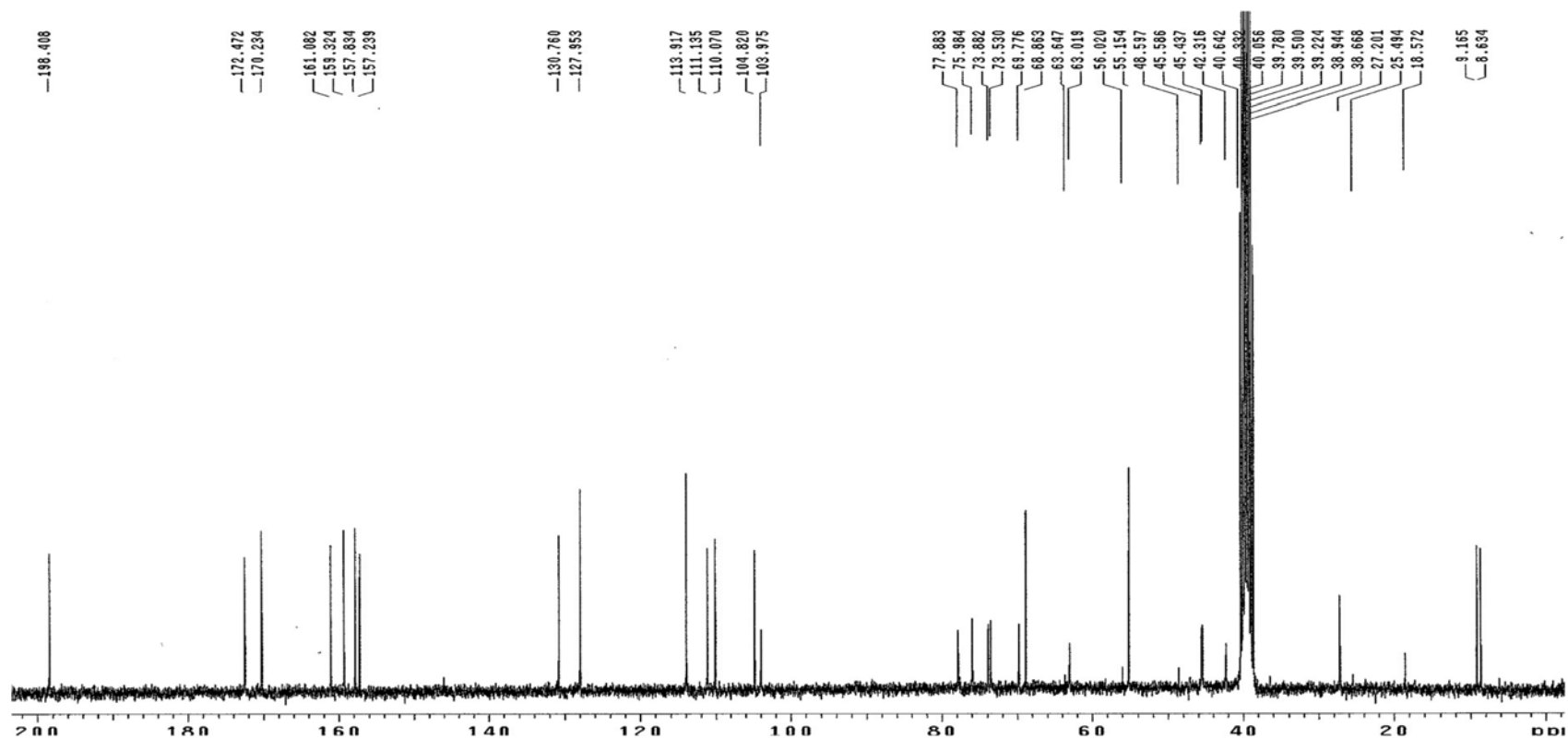


Figure 49. ^{13}C NMR spectrum of compound 14

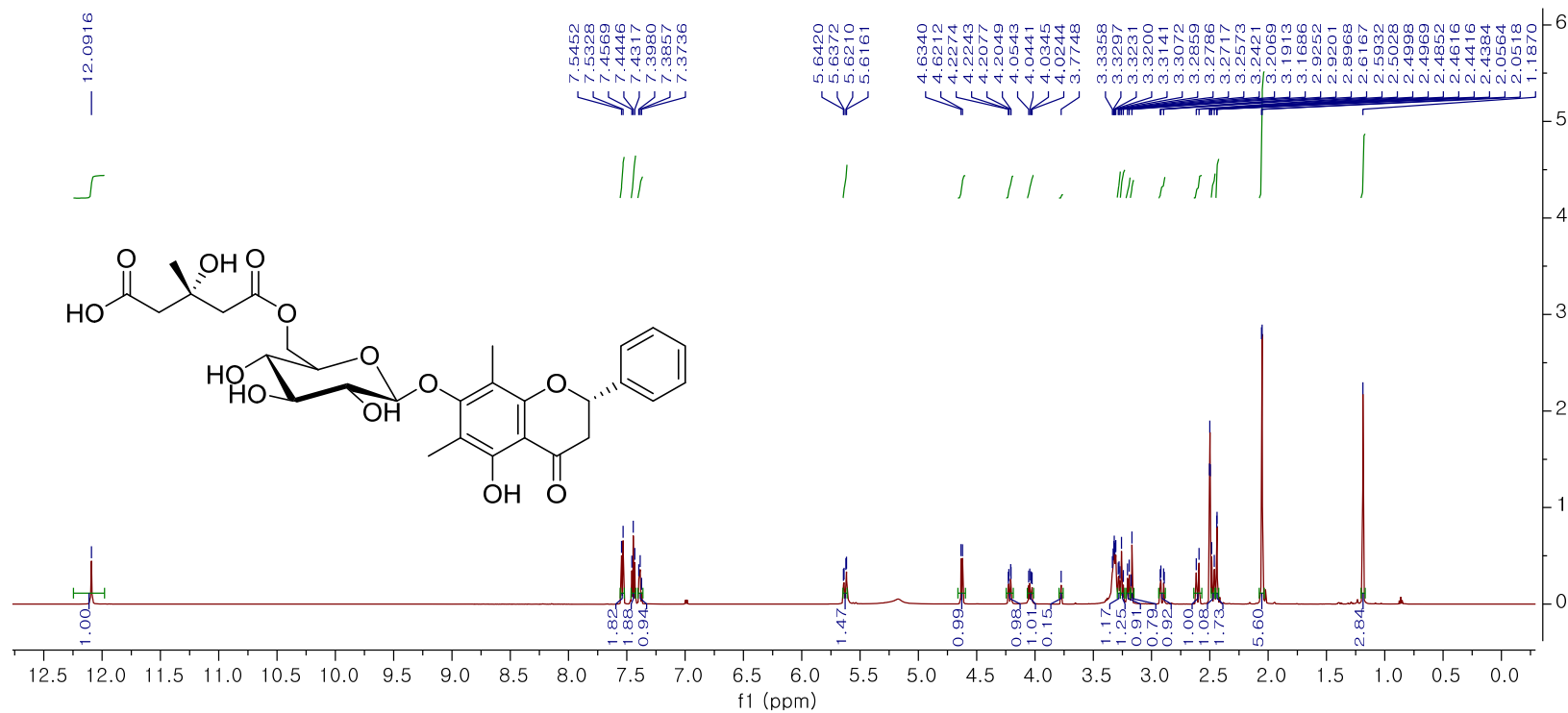


Figure 50. ¹H NMR spectrum of compound 15

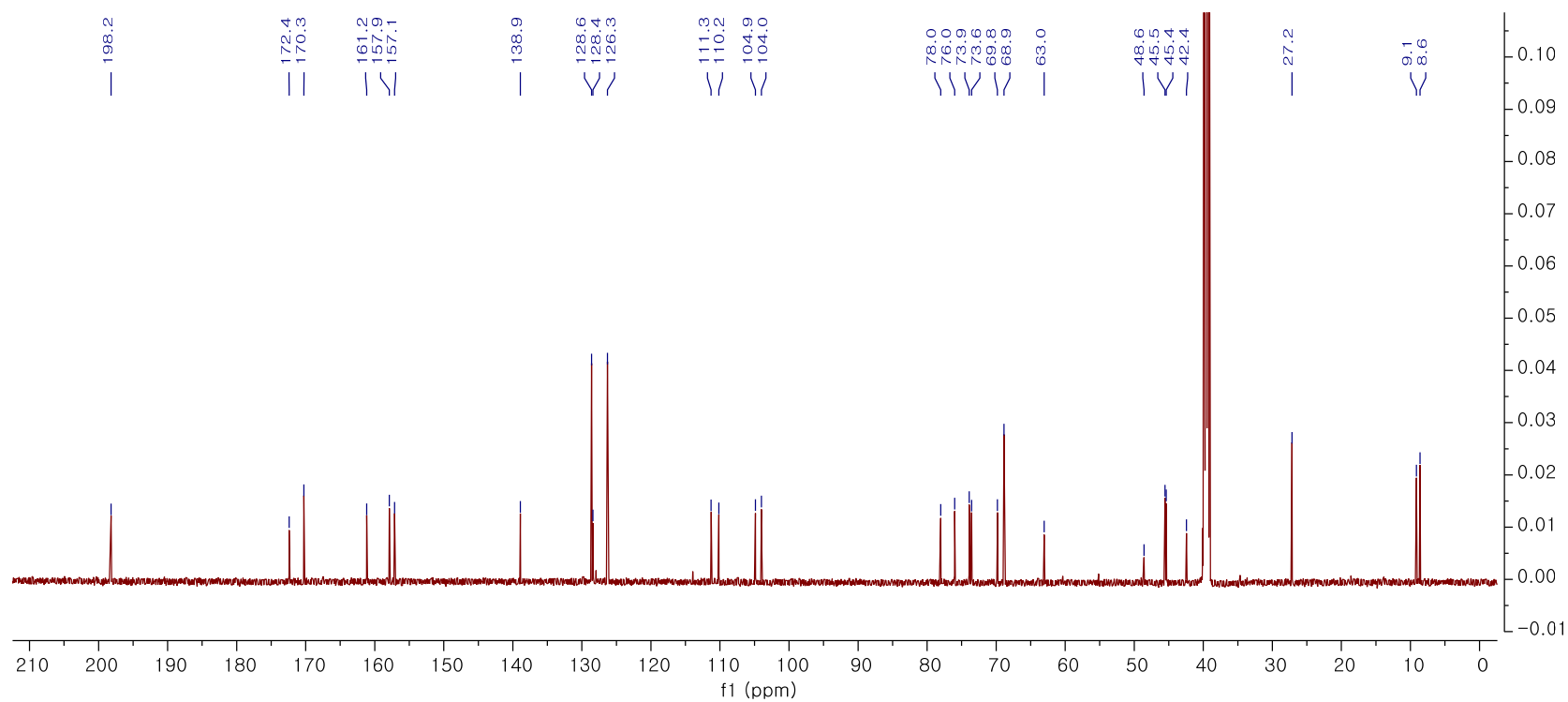


Figure 51. ¹³C NMR spectrum of compound 15

3.1.14 화합물 16, 17

화합물 16는 노란 무정형 분말로 HRESIMS 측정을 통하여 분자식은 $C_{29}H_{32}O_{13}$ 로 얻었으며, negative mode 에서 m/z 587.1769 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{29}H_{31}O_{13}$, 587.1765) 의 값을 나타낸다. MS 값을 통하여 화합물 15 보다 수소가 2개 부족하여 구조에서 이중결합이 형성되었을 것이라 예상 할 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 단일치환된 aromatic ring [δ_H 8.11 (d, $J = 8.0, 1.5$ Hz, H-2', 6'), 7.63 (m, H-3', 4', 5')]을 가지며 한 개의 anomeric 수소 [δ_H 4.70 (d, $J = 7.7$ Hz, H-1'')], 두 개의 C-methyl기 (δ_H 2.40, 2.17)를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. 또한, flavonoid 2번 위치에서 수소가 발견되지 않았고, 3번 위치에서 [δ_H 7.09 (s, H-3)]를 통하여 이중결합이 flavonoid 2,3 번에 생겼음을 확인 할 수 있었다. HMG 잔기(δ_C 173.1, 170.3, 68.8, 45.7, 45.5)의 탄소들도 확인 할 수 있었으며, 이러한 결과들을 통하여 기존문헌과 비교하였을 때, 화합물 16를 matteuorienate C 로 동정할 수 있었다. (Basnet et al., 1995)

화합물 17은 노란 무정형의 분말로 $C_{22}H_{24}O_9$ 의 분자식을 가지며, 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,4-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.34 (d, $J = 8.5$ Hz), 6.78 (d, $J = 8.6$ Hz)]과 한 개의 C-methyl기 (δ_H 1.91)를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. 한 개의 anomeric 수소 [δ_H 4.62 (d, $J = 9.7$ Hz)]를 통하여 당의 존재를 예상 할 수 있었고, anomeric 수소의 J value를 통하여 문헌치와 비교하여 8번위치에 결합된 C-glucose 임을 확인하였다. 화합물 17을 문헌치와 비교하여 matteuorienin 으로 동정하였다. (Basnet et al., 1995)

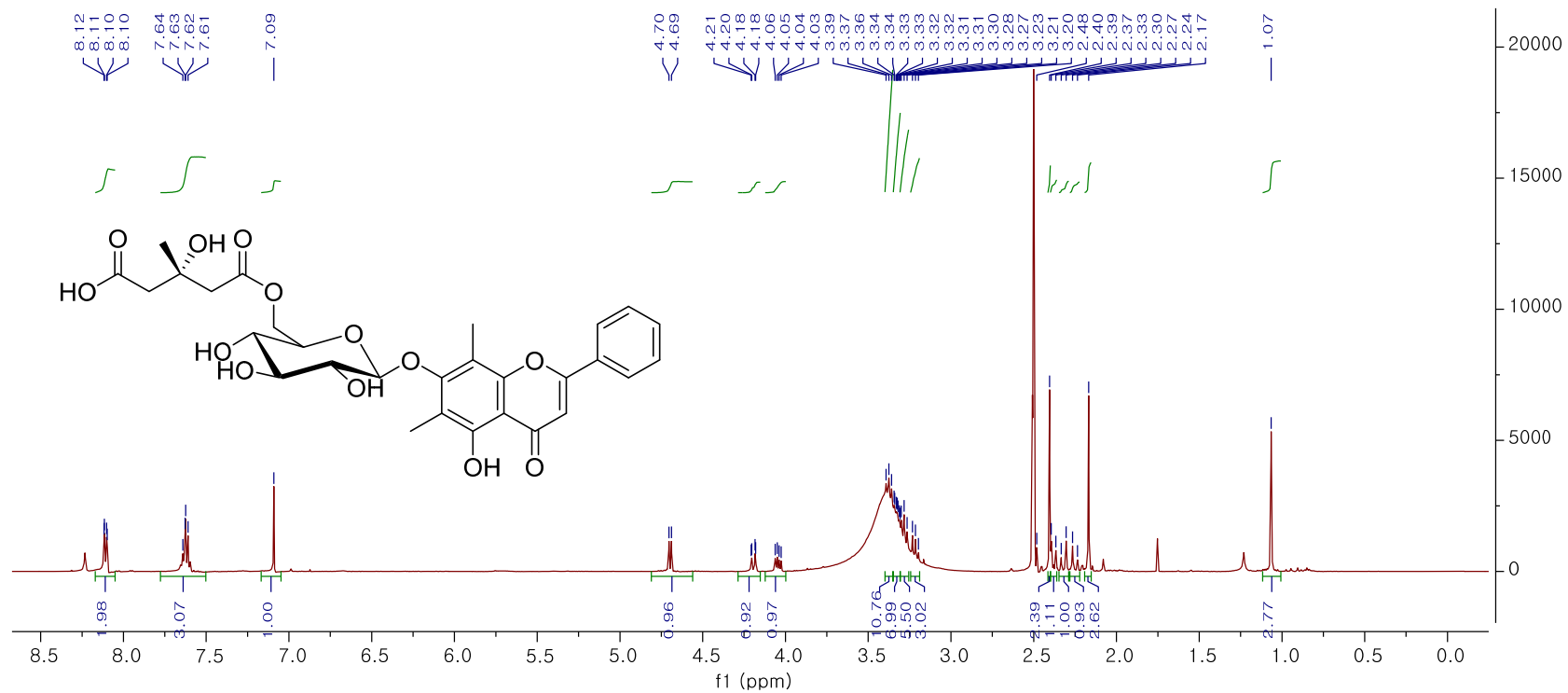


Figure 52. ¹H NMR spectrum of compound 16

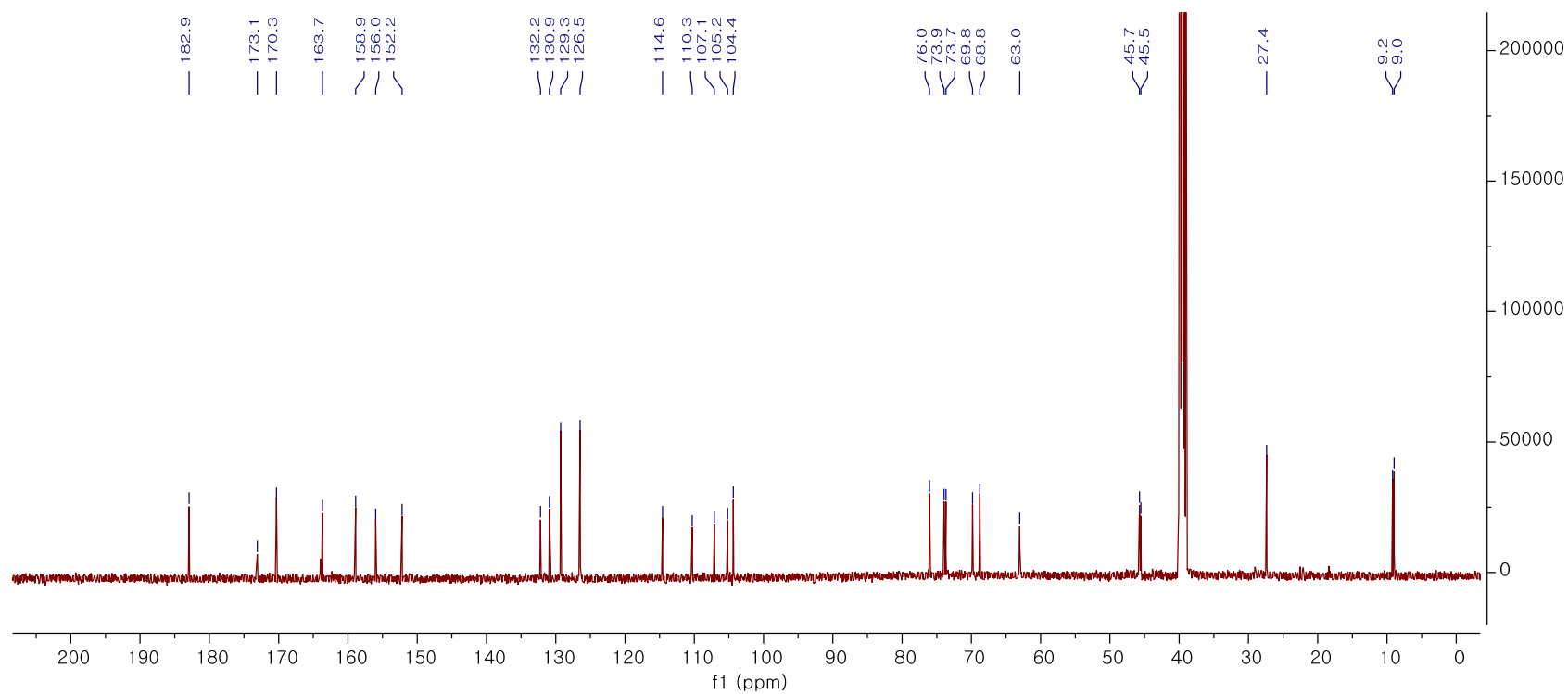


Figure 53. ^{13}C NMR spectrum of compound 16

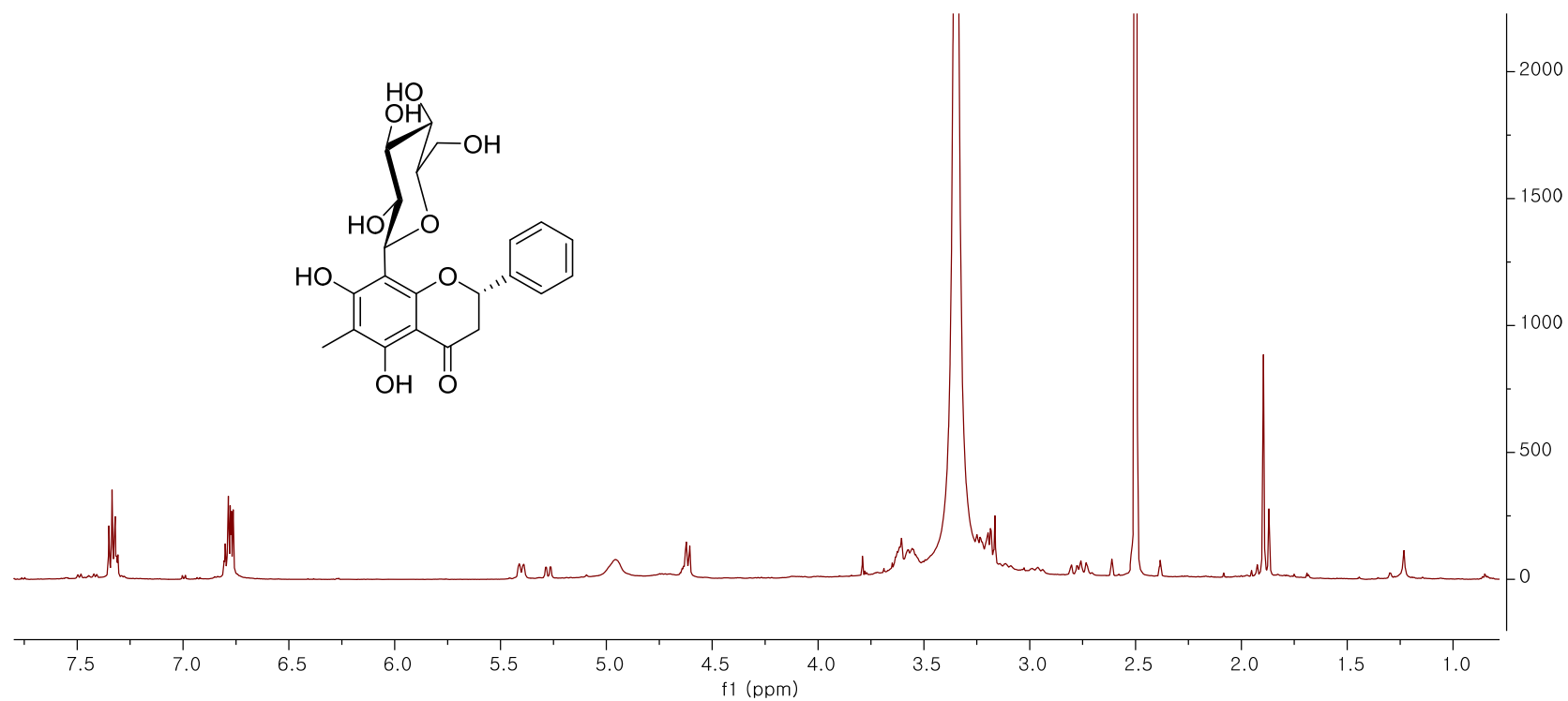


Figure 54. ^1H NMR spectrum of compound 17

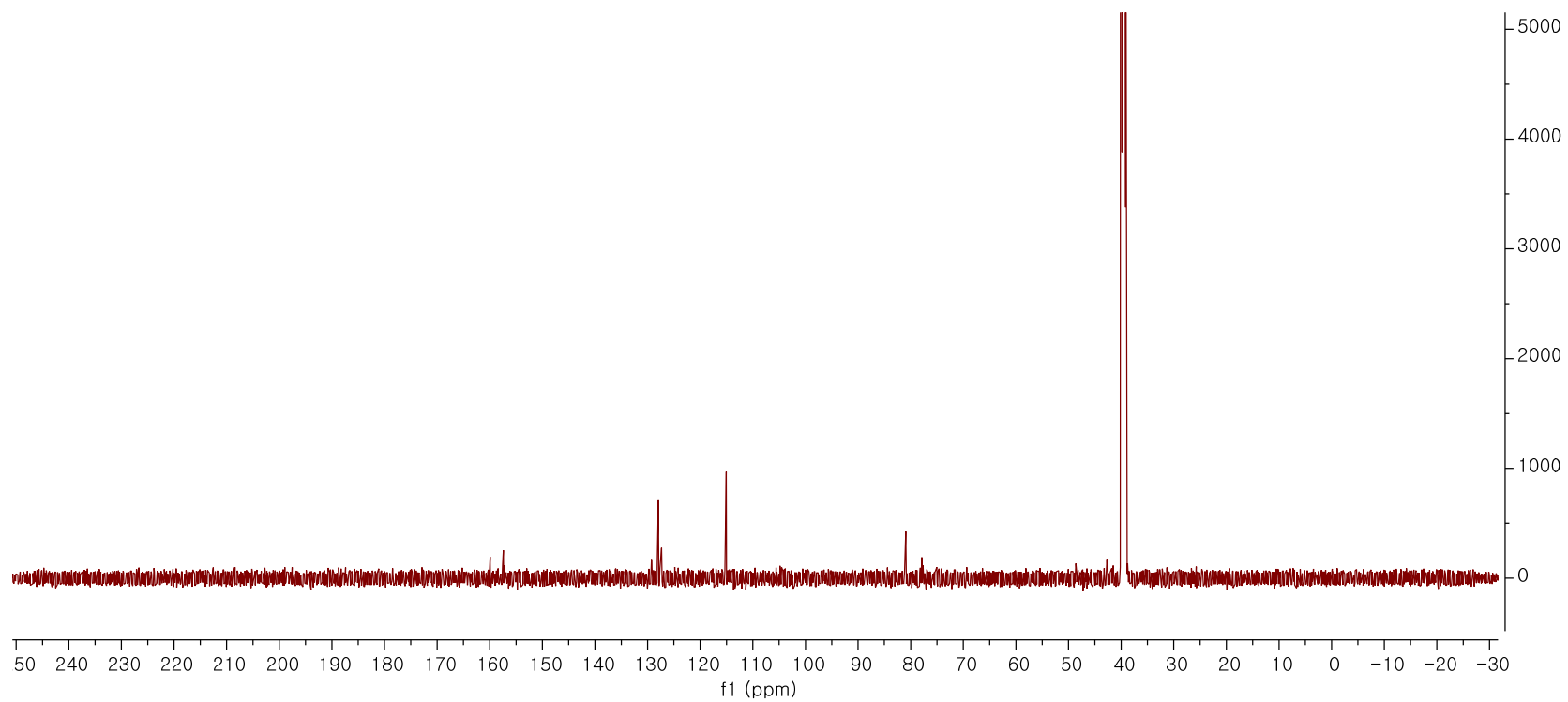


Figure 55. ^{13}C NMR spectrum of compound 17

3.1.15 화합물 18-20

화합물 18은 노란 무정형 분말로 $C_{23}H_{26}O_9$ 의 분자식을 가지는 물질이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 단일치환된 aromatic ring [δ_H 7.54 (d, $J = 8.0$ Hz), 7.47–7.36 (m)]을 가지며 한 개의 anomeric 수소 [δ_H 4.59 (d, $J = 7.2$ Hz)], 두 개의 *C*-methyl기 (δ_H 2.08, 2.06)를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. 문헌치와 비교하여 화합물 18을 demethoxymatteucinol 7-*O*- β -D-glucoside로 동정하였다. (Li et al., 2001)

화합물 19는 노란 무정형 분말로 분자식은 $C_{24}H_{28}O_{10}$ 이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,4-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.46 (d, $J = 8.8$ Hz), 6.99 (d, $J = 8.6$ Hz)]을 가지며 한 개의 anomeric 수소 [δ_H 4.58 (d, $J = 7.5$ Hz)], 두 개의 *C*-methyl기 (δ_H 2.08, 2.06), 한 개의 methoxy기 (δ_H 3.77)를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. 화합물 19를 문헌치와 비교하여 matteucinol 7-*O*- β -D-glucoside로 동정하였다. (Li et al., 2001)

화합물 20은 분자식 $C_{24}H_{28}O_{11}$ 을 가지는 노란 무정형의 분말이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,2,5-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 7.04 (d, $J = 3.2$ Hz), 6.82 (d, $J = 8.8$ Hz), 6.79 (dd, $J = 8.8, 3.0$ Hz)]을 가지며 한 개의 anomeric 수소 [δ_H 4.60 (d, $J = 7.9$ Hz)], 두 개의 *C*-methyl기 (δ_H 2.10, 2.09), 한 개의 methoxy기 (δ_H 3.69)를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. 당의 위치는 HMBC를 통하여 δ_H 4.60과 δ_C 161.4 와의 상호작용이 나타나는 것을 확인하여 결정하였다. 모든 결과를 종합한 후, 문헌치와 비교하여 화합물 20을 myrciacitrin II로 동정하였다. (Yoshikawa et al., 1998)

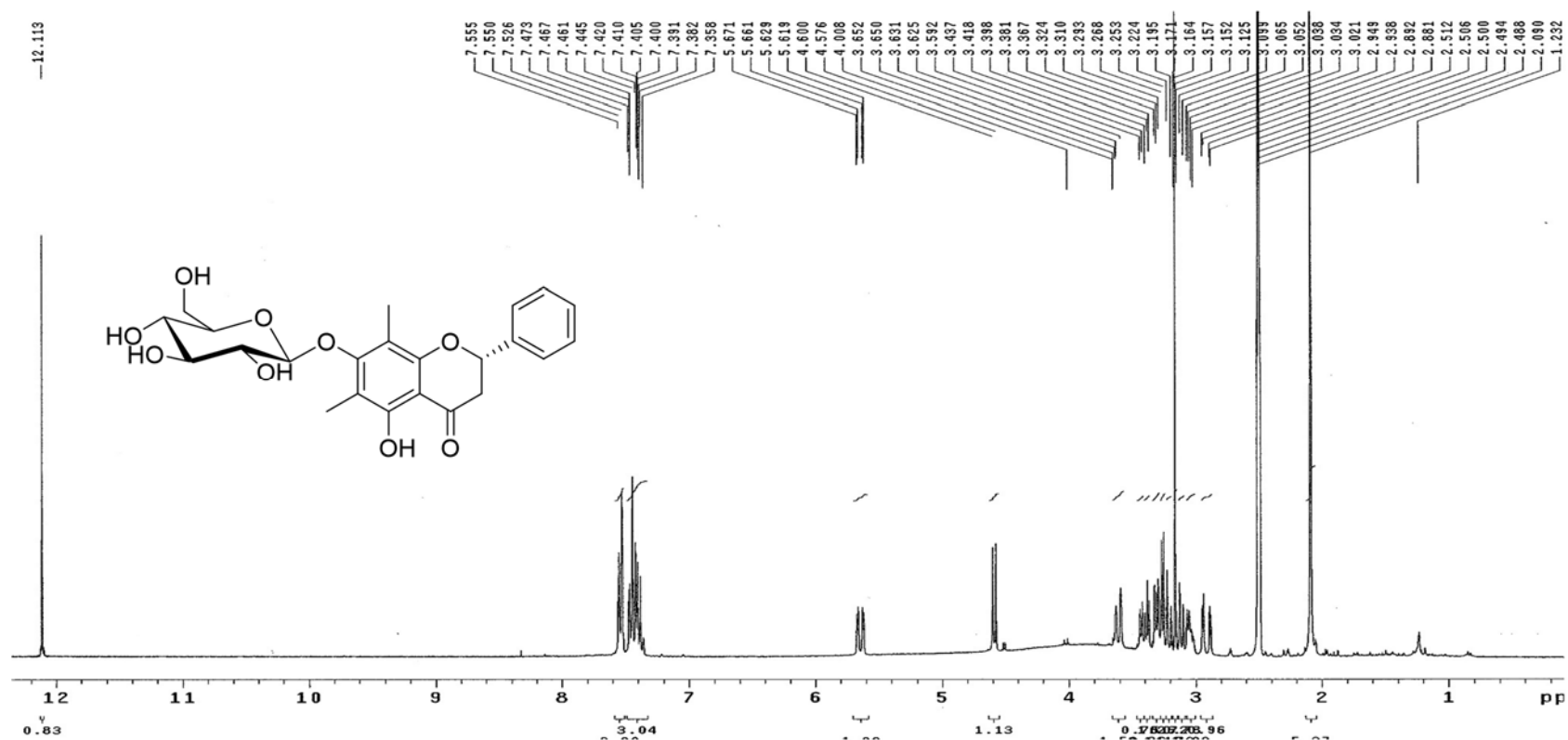


Figure 56. ^1H NMR spectrum of compound 18

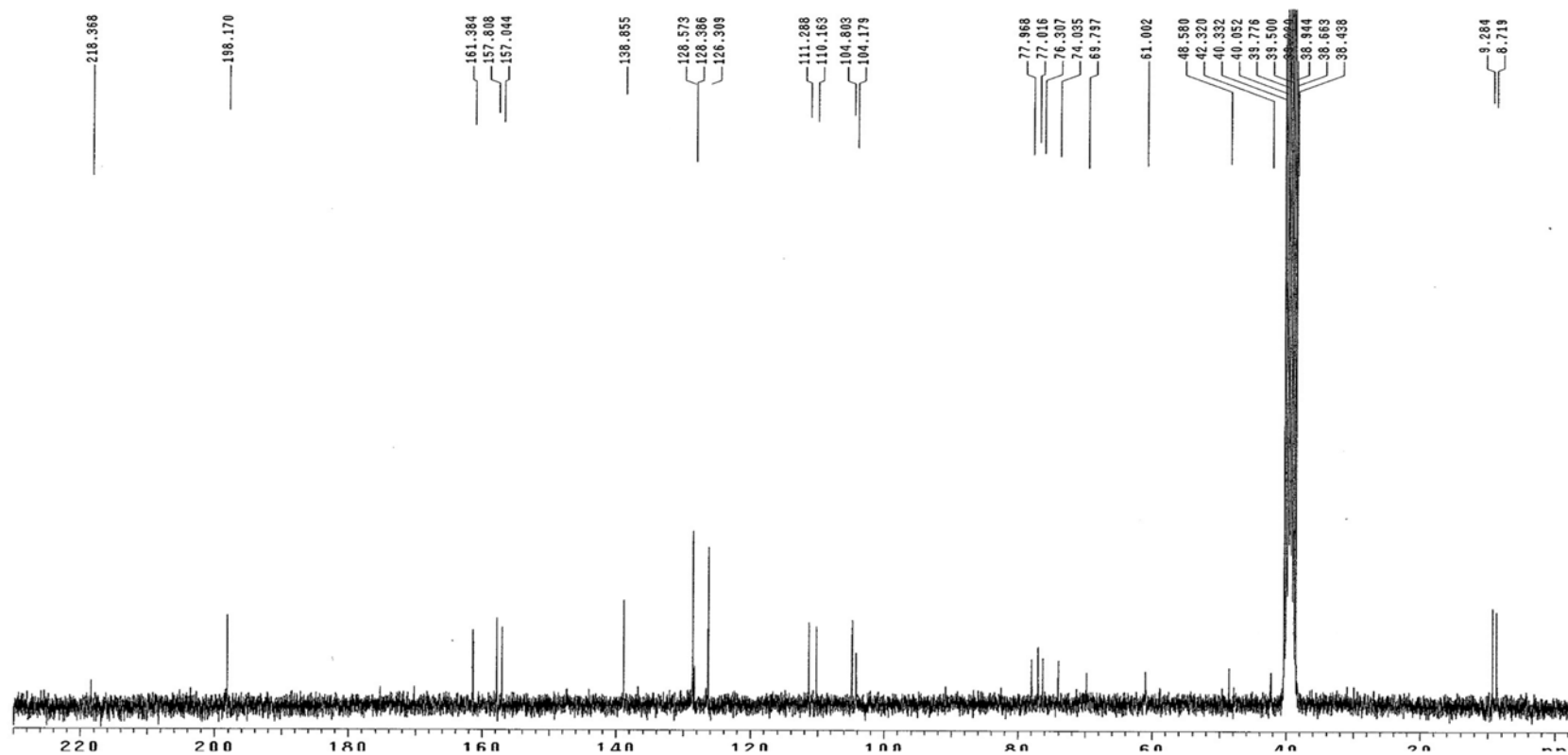


Figure 57. ¹³C NMR spectrum of compound 18

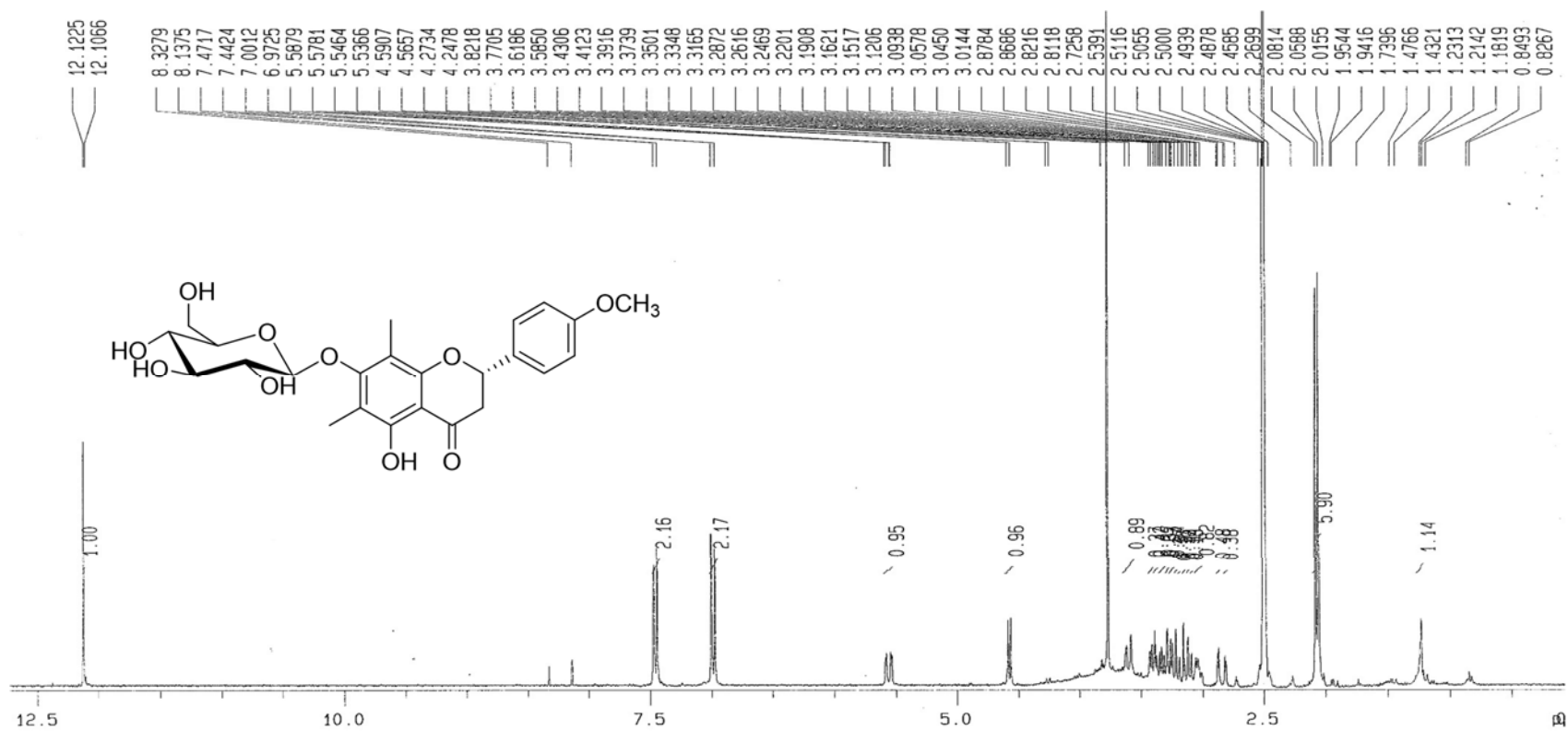


Figure 58. ¹H NMR spectrum of compound 19

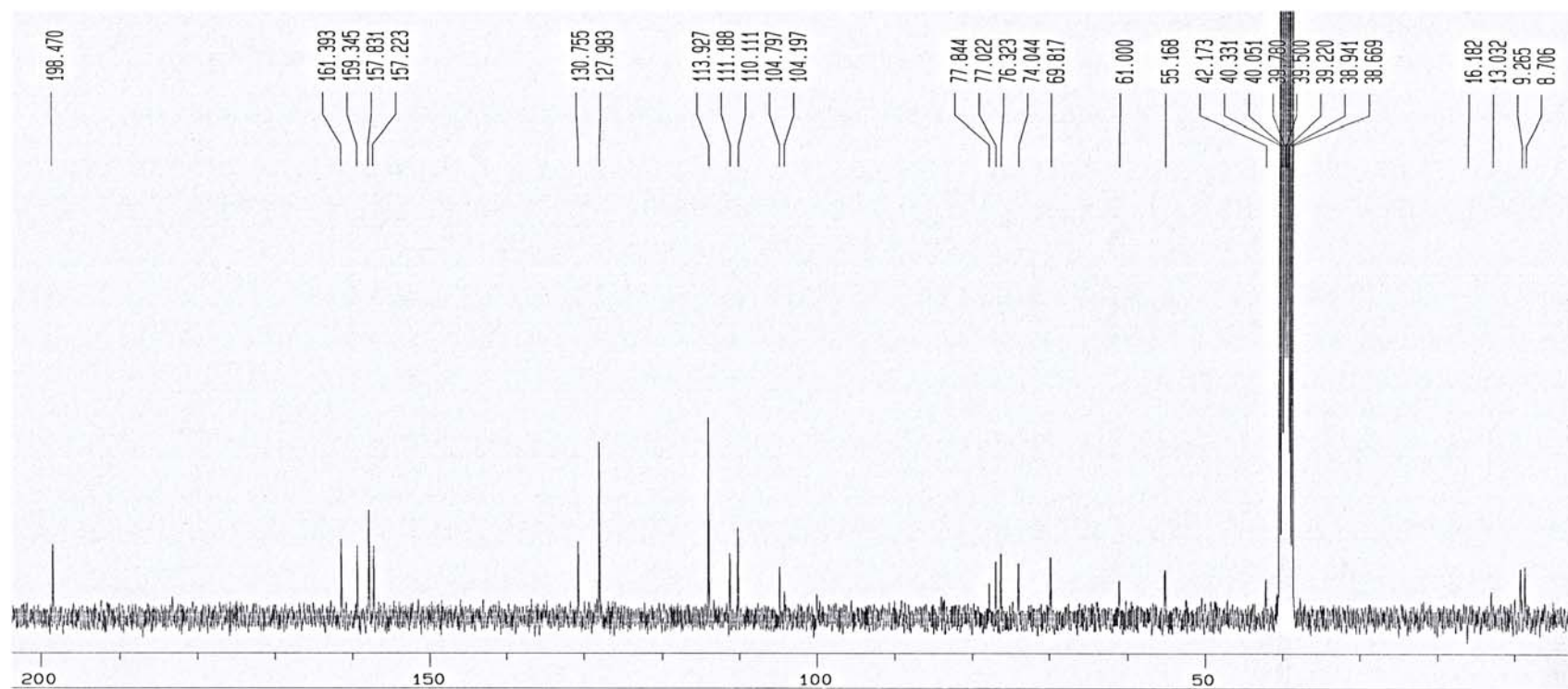


Figure 59. ^{13}C NMR spectrum of compound 19

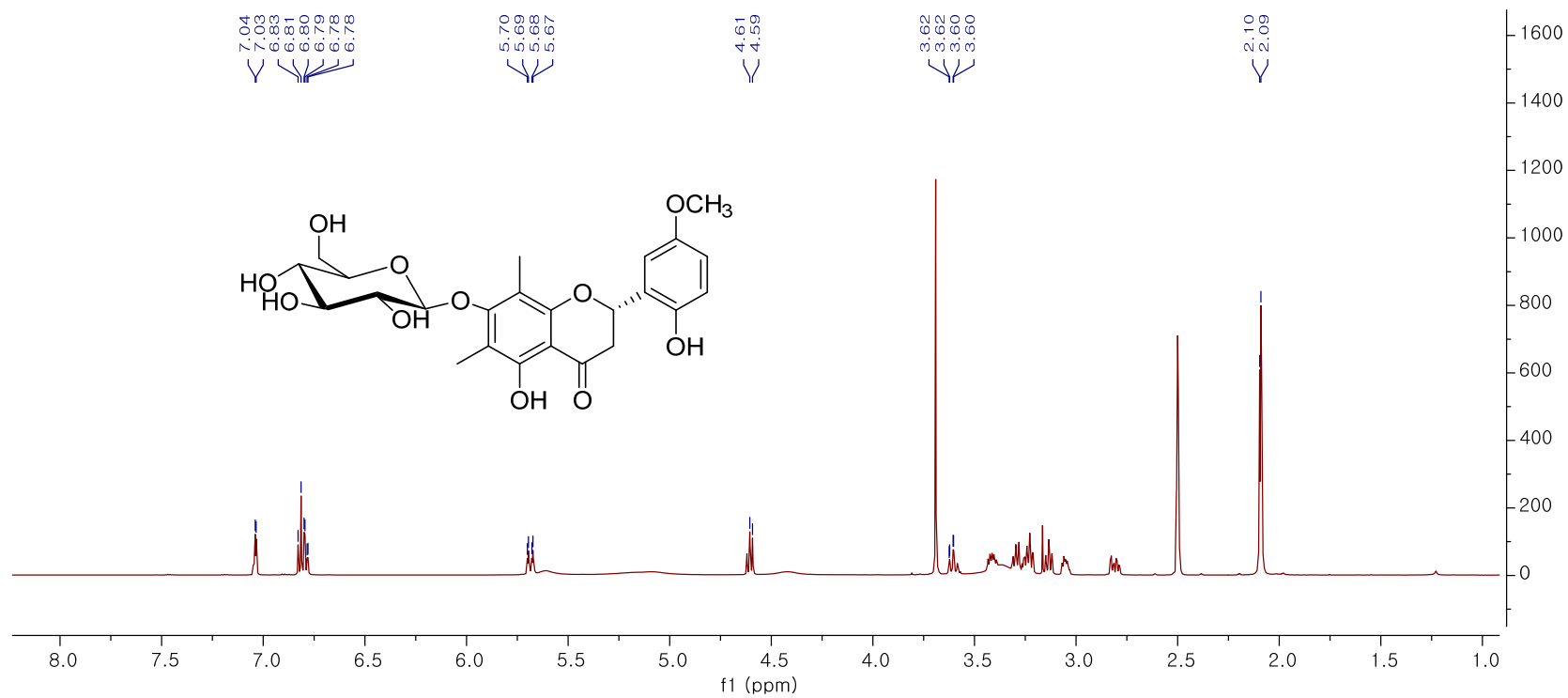


Figure 60. ^1H NMR spectrum of compound 20

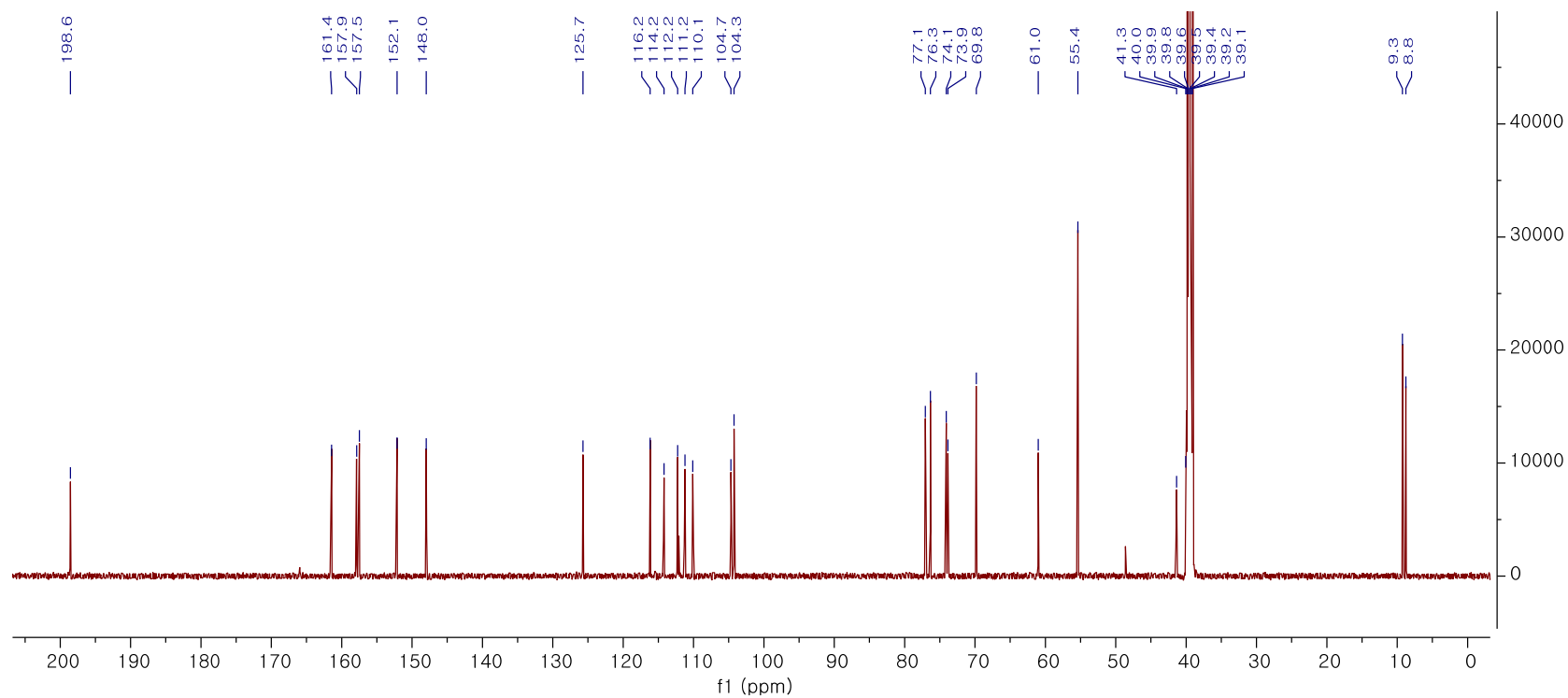


Figure 61. ^{13}C NMR spectrum of compound 20

3.1.17 화합물 21-24

화합물 **21**은 노란 무정형 분말로 분자식은 $C_{17}H_{16}O_4$ 이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 단일치환된 aromatic ring [δ_H 7.53 (d, $J = 7.4$ Hz), 7.44 (t, $J = 7.5, 7.5$ Hz) $\times 2$, 7.38 (t, $J = 7.3, 7.3$ Hz) $\times 2$]을 가지며 두 개의 C-methyl기 (δ_H 1.97) 를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. 이를 문헌치와 비교하여 화합물 **21**을 demethoxymatteucinol로 동정하였다. (Basnet et al., 1993)

화합물 **22**는 노란 무정형 분말로 $C_{18}H_{18}O_5$ 을 가지는 화합물이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,4-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.44 (d, $J = 8.6$ Hz), 6.98 (d, $J = 8.6$ Hz)]을 가지며 두 개의 C-methyl기 (δ_H 1.93, 1.92), 한 개의 methoxy기 (δ_H 3.77)를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. 이상의 결과를 문헌치와 비교하여 화합물 **22**를 matteucinol으로 동정하였다. (Basnet et al., 1993)

화합물 **23**은 노란 무정형 분말로 분자식은 $C_{17}H_{16}O_5$ 을 가진다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,2-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.46 (dd, $J = 7.6, 1.7$ Hz), 7.18 (td, $J = 7.7, 1.7$ Hz), 6.89 (dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz), 6.88 (td, $J = 8.1, 1.8$ Hz)]을 가지며 두 개의 C-methyl기 (δ_H 1.97)를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. 이상의 결과를 문헌치와 비교하여 화합물 **23**을 matteucin으로 동정하였다. (Mohri et al., 1982)

화합물 **24**는 분자식 $C_{17}H_{16}O_5$ 을 가지는 노란 무정형 분말이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,4-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.32 (d, $J = 8.5$ Hz), 6.80 (d, $J = 8.6$ Hz)]을 가지며 두 개의 C-methyl기 (δ_H 1.95, 1.93)를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. 이상의 결과를 문헌치와 비교하여 화합물 **24**를 farrerol로 동정하였다. (Youssef et al., 1998)

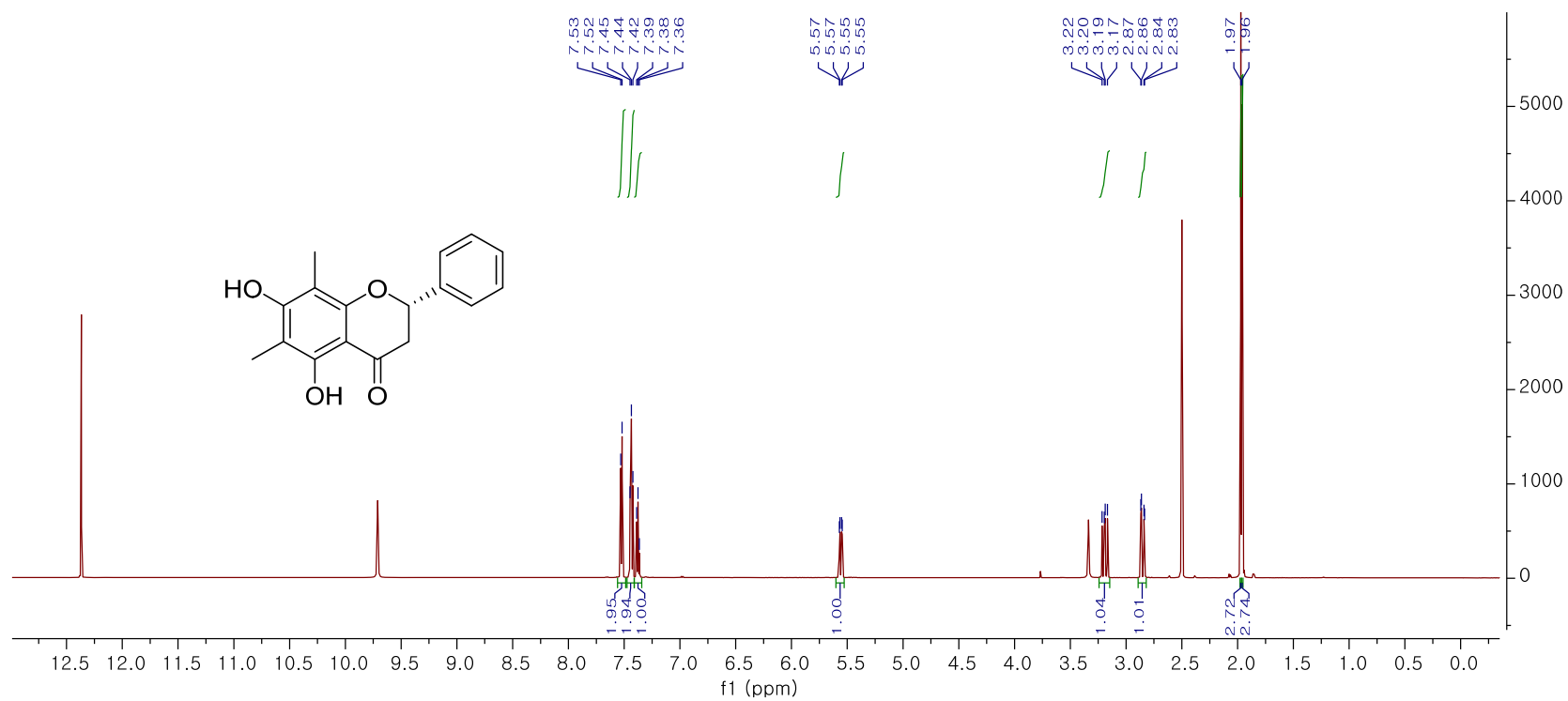


Figure 62. ¹H NMR spectrum of compound 21

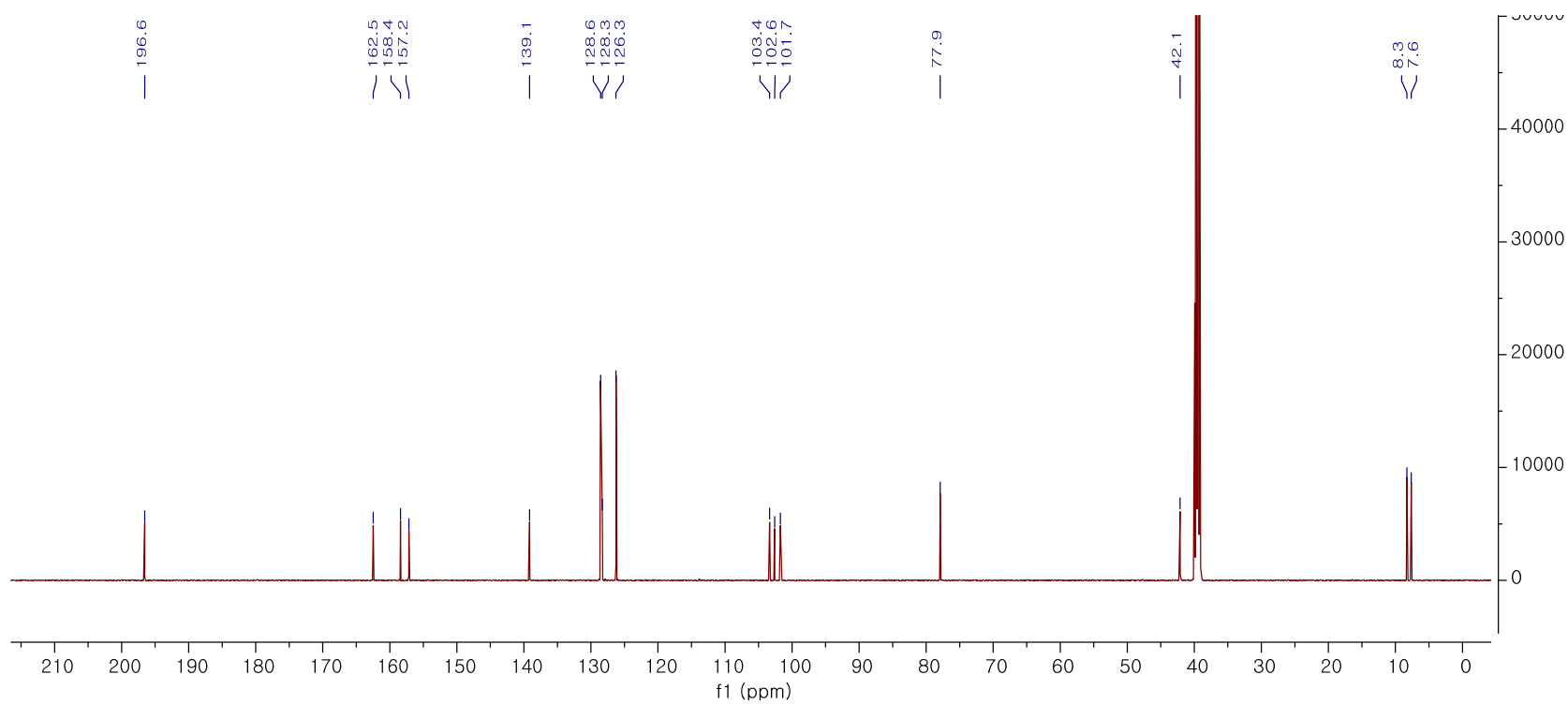


Figure 63. ^{13}C NMR spectrum of compound 21

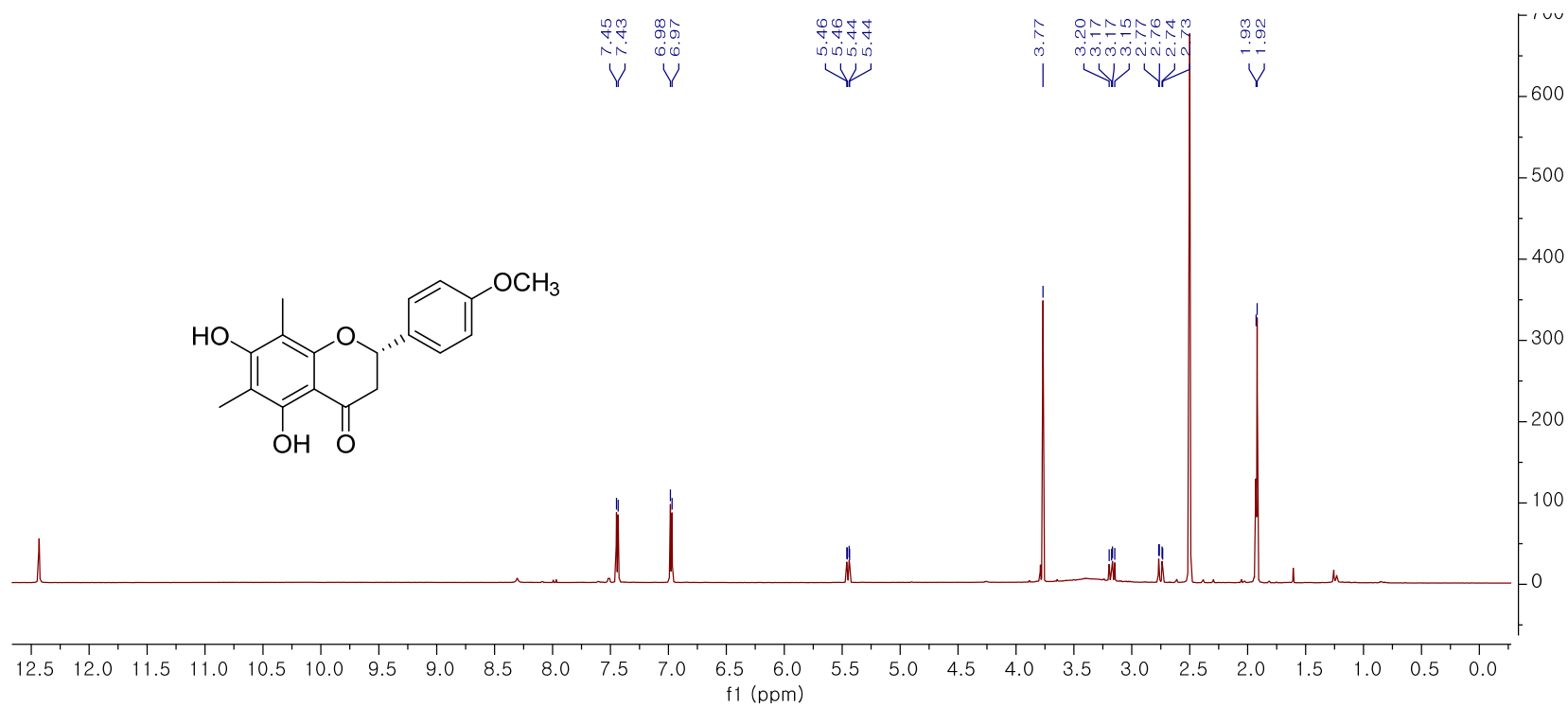


Figure 64. ¹H NMR spectrum of compound 22

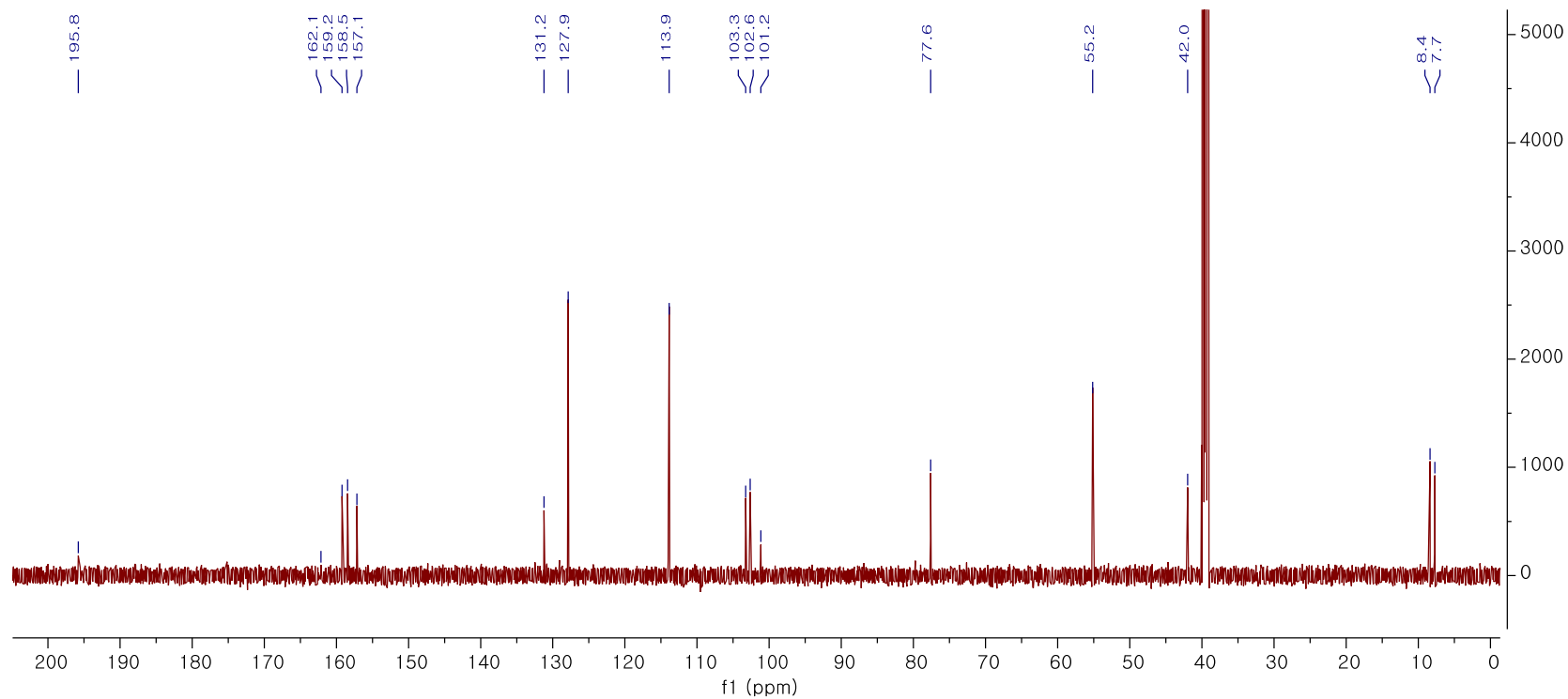


Figure 65. ^{13}C NMR spectrum of compound 22

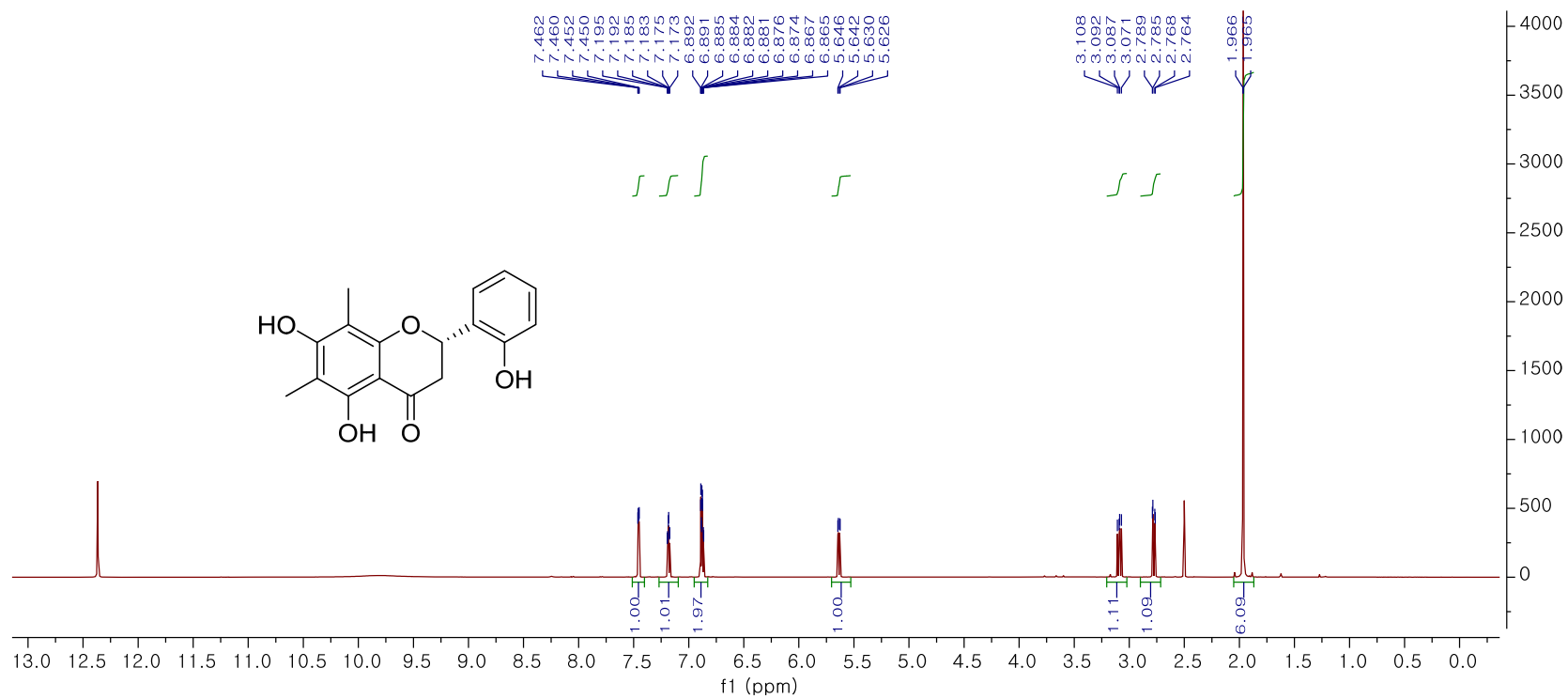


Figure 66. ¹H NMR spectrum of compound 23

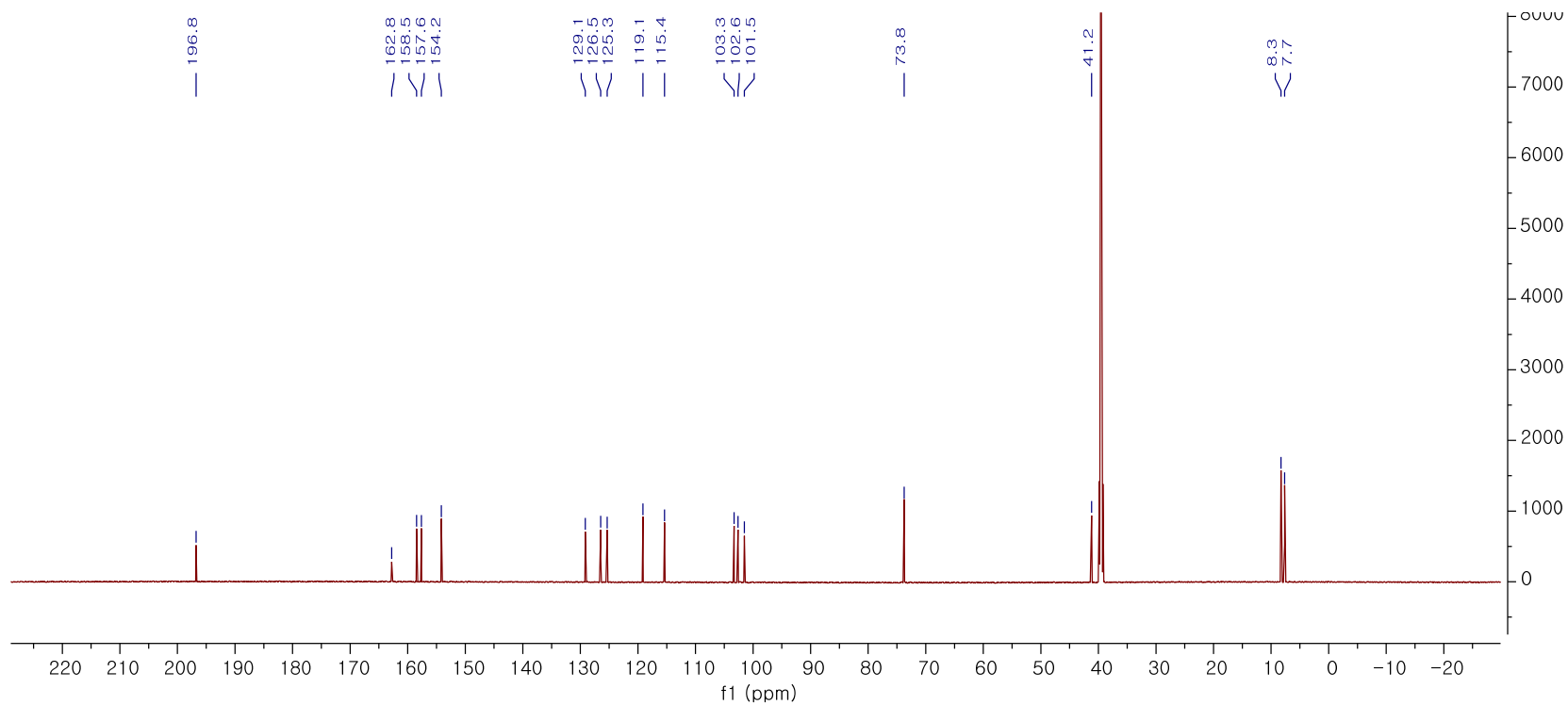


Figure 67. ^{13}C NMR spectrum of compound 23

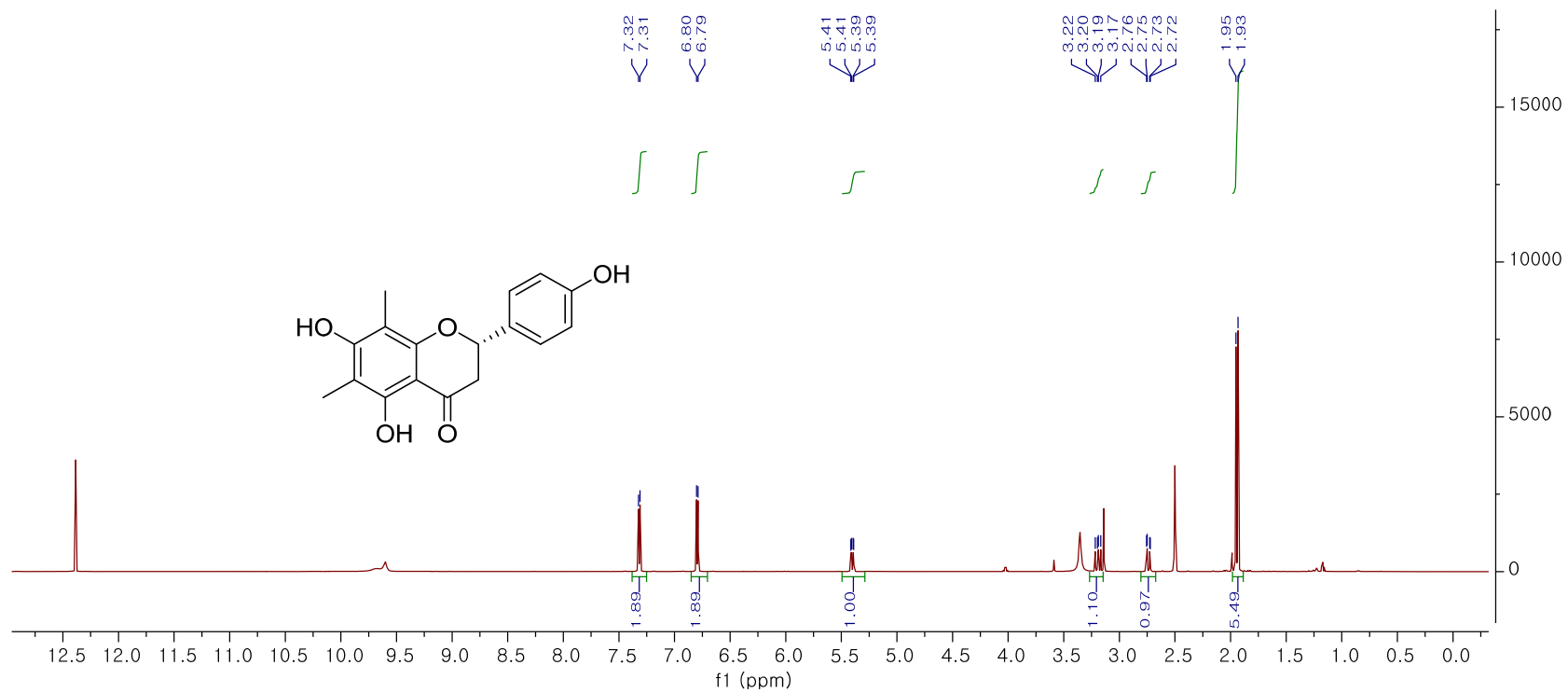


Figure 68. ¹H NMR spectrum of compound 24

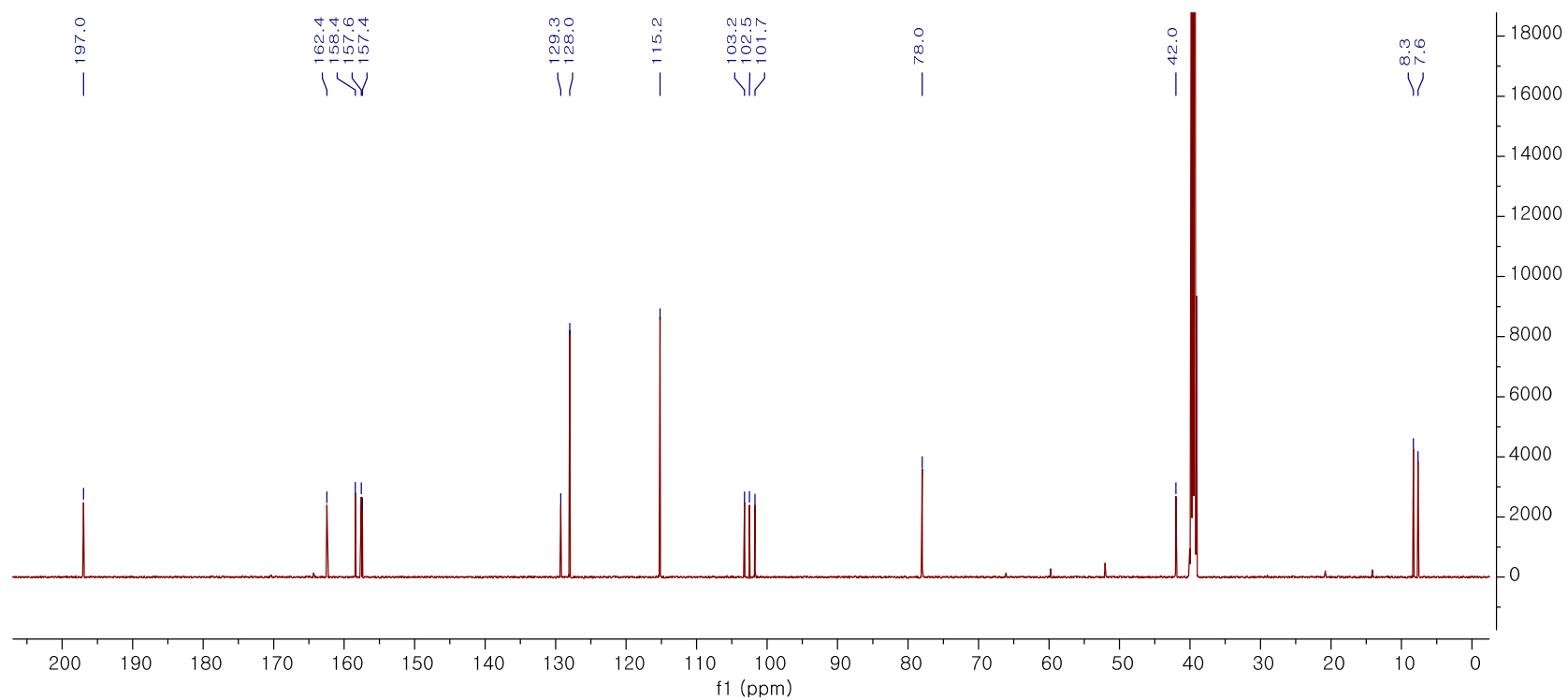


Figure 69. ^{13}C NMR spectrum of compound 24

3.1.23 화합물 25, 26

화합물 25는 노란 무정형 분말로 분자식은 $C_{18}H_{18}O_6$ 이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,2,5-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 7.02 (d, $J = 2.9$ Hz), 6.80 (d, $J = 8.7$ Hz), 6.77 (dd, $J = 8.8, 3.0$ Hz)]과 한 개의 methoxy기 (δ_H 3.69), 두 개의 C-methyl기 (δ_H 1.94, 1.93)를 가지는 flavonoid 임을 알 수 있었다. HMBC spectrum 을 통하여 (δ_H 3.69)와 (δ_C 152.2)의 상호작용을 확인하여 methoxy기의 위치를 5'번 위치로 결정할 수 있었다. 이상의 결과를 문헌치와 비교하여 화합물 25를 methoxymatteucin으로 동정하였다. (Mohri et al., 1982)

화합물 26는 노란색의 무정형 분말로 HRESIMS 측정을 통하여 negative mode 에서 m/z 329.1027 [$M - H$] $^-$ (calcd for 329.1025)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{18}H_{18}O_6$ 이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,3,5-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 7.02 (s), 6.79 (s) x 2]과 한 개의 methoxy기 (δ_H 3.69), 두 개의 C-methyl기 (δ_H 1.97) x 2를 가지고 있는 flavonoid 임을 알 수 있었다. HMBC spectrum 에서 (δ_H 3.69)와 (δ_C 147.7)의 상호작용을 통하여 flavonoid B-ring의 3'번위치에 methoxy기가 있음을 결정할 수 있었다. 모든 결과를 종합하여 문헌치와 비교한 결과, 화합물 26을 (2S)-3'-methoxy 6,8-dimethyl huazhongilexone 로 동정할 수 있었다. (Feng et al., 2005)

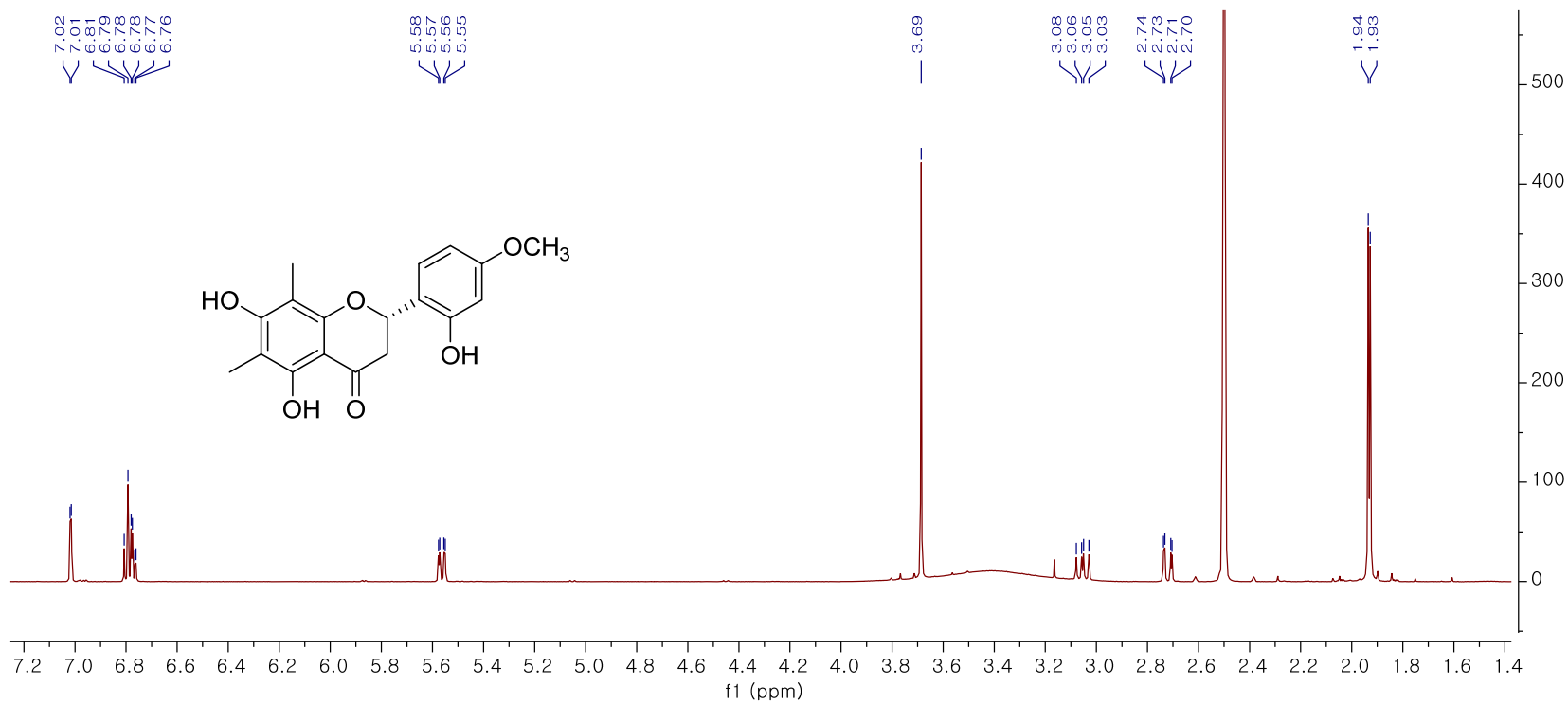


Figure 70. ¹H NMR spectrum of compound 25

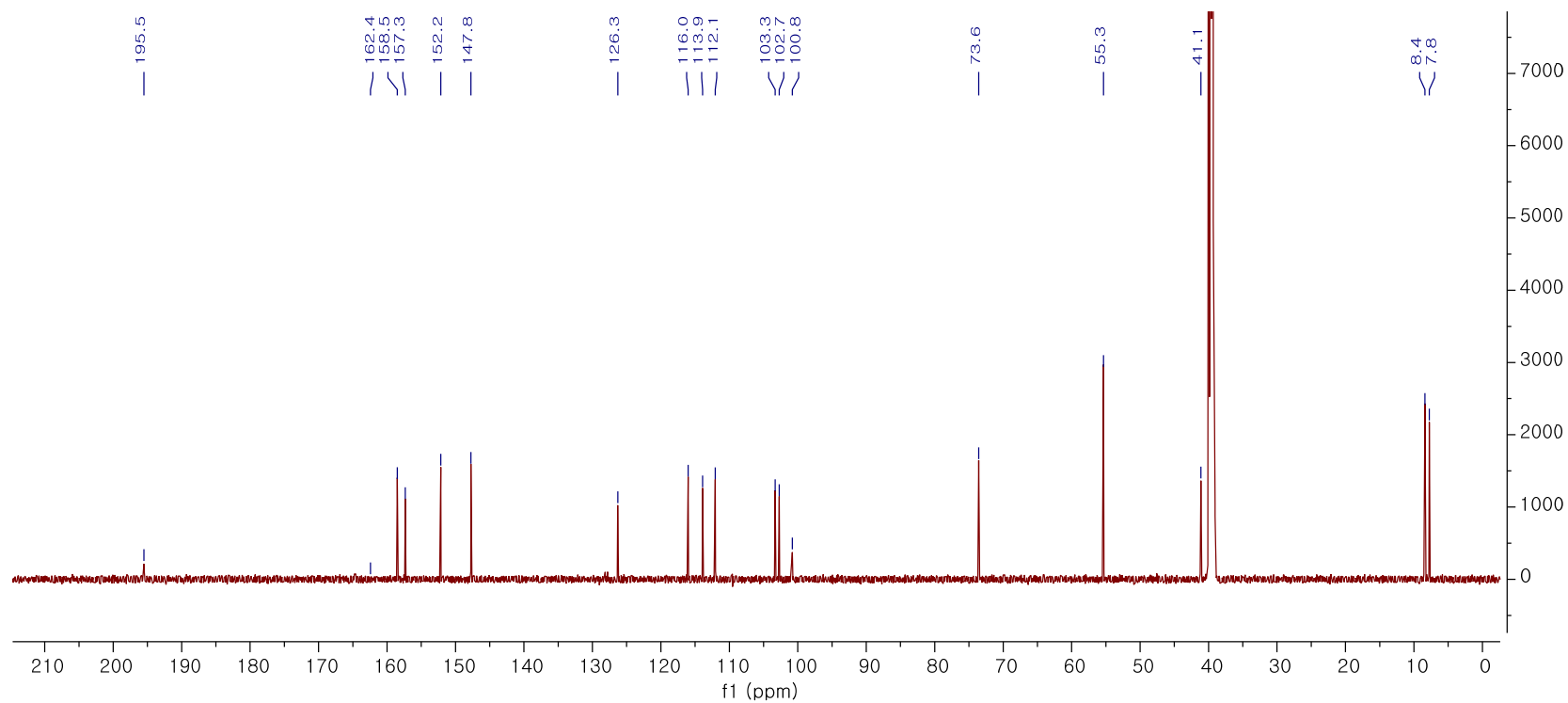


Figure 71. ^{13}C NMR spectrum of compound 25

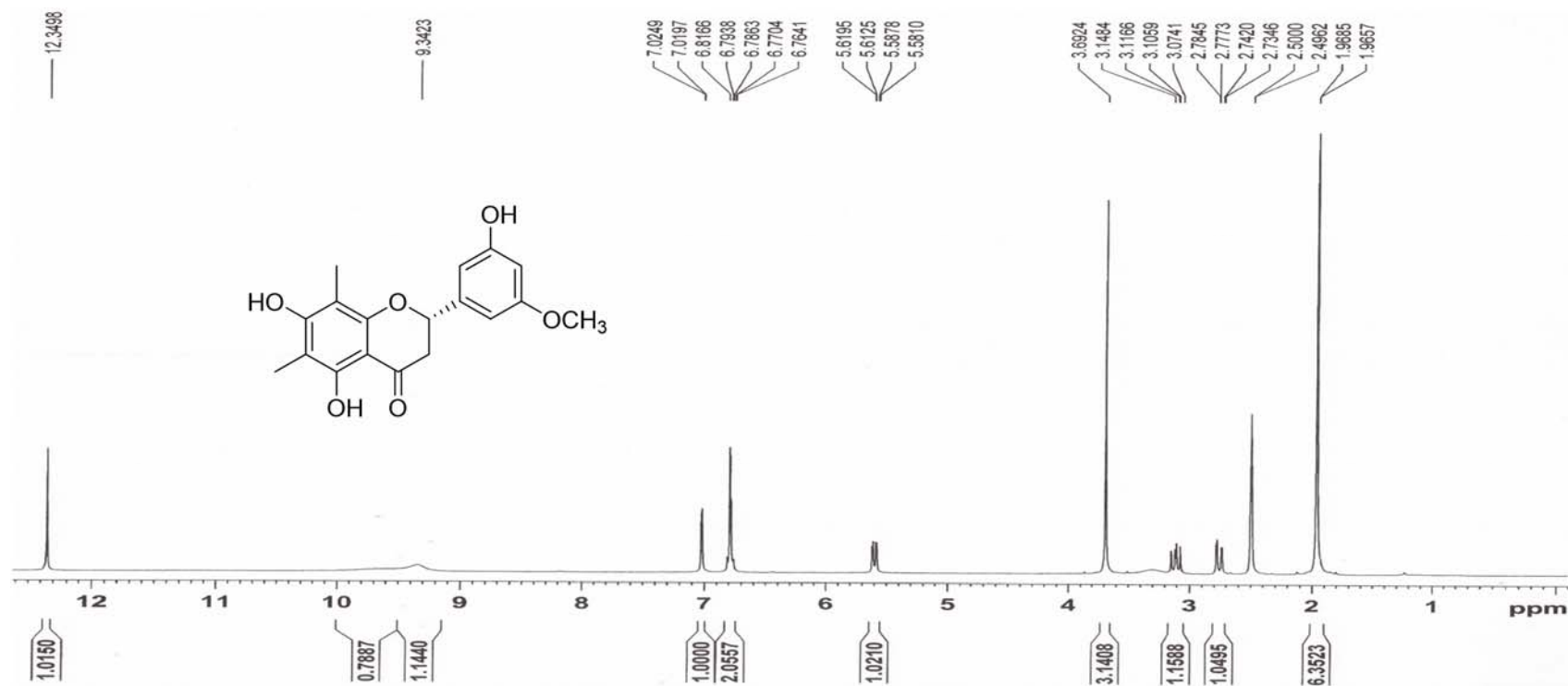


Figure 72. ¹H NMR spectrum of compound 26

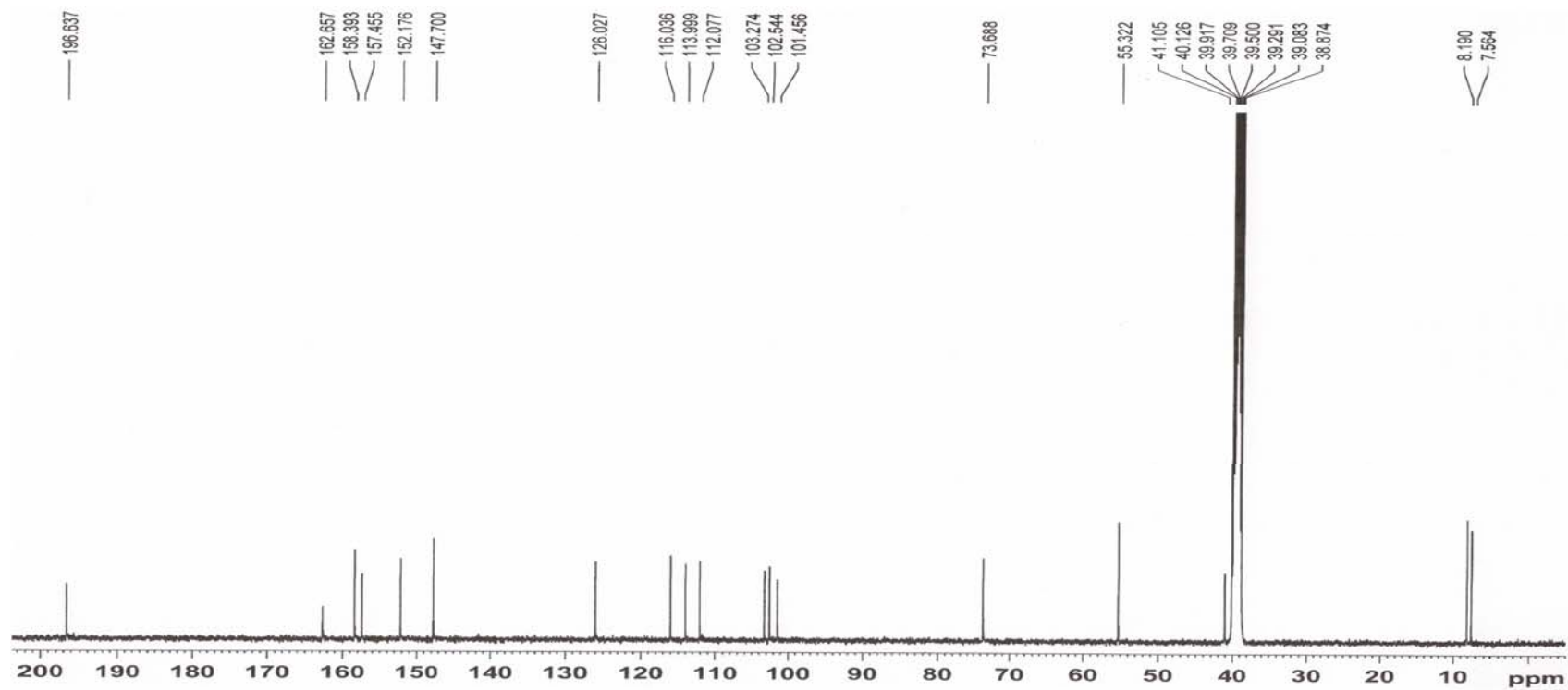


Figure 73. ^{13}C NMR spectrum of compound 26

3.1.25 화합물 27, 28

화합물 27은 노란 무정형 분말로 $C_{15}H_{12}O_5$ 의 분자식을 가진다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,4-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.31 (d, $J = 8.6$ Hz), 6.79 (d, $J = 8.6$ Hz)] 과 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 5.88 (s)] x 2을 가지고 있는 flavonoid 임을 쉽게 알 수 있었다. 이상의 결과를 문헌치와 비교하여 화합물 27을 naringenin으로 동정하였다. (Xu et al., 2013)

화합물 28은 노란 무정형 분말로 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 하나의 이중결합 [δ_H 8.25 (d, $J = 5.9$ Hz), 6.26 (t, $J = 5.8$ Hz)] 과 ketone 기(δ_C 181.5)가 존재하며 두 개의 C-methyl기 (δ_H 2.15, 2.04)를 확인하여 flavonoid 와 유사하지만 B-ring 이 존재하지 않는 chromone 구조에 C-methyl화 된 구조임을 예상할 수 있었다. 이를 문헌치와 비교하여 화합물 28을 leptorumol로 동정하였다. (Shao et al., 2011)

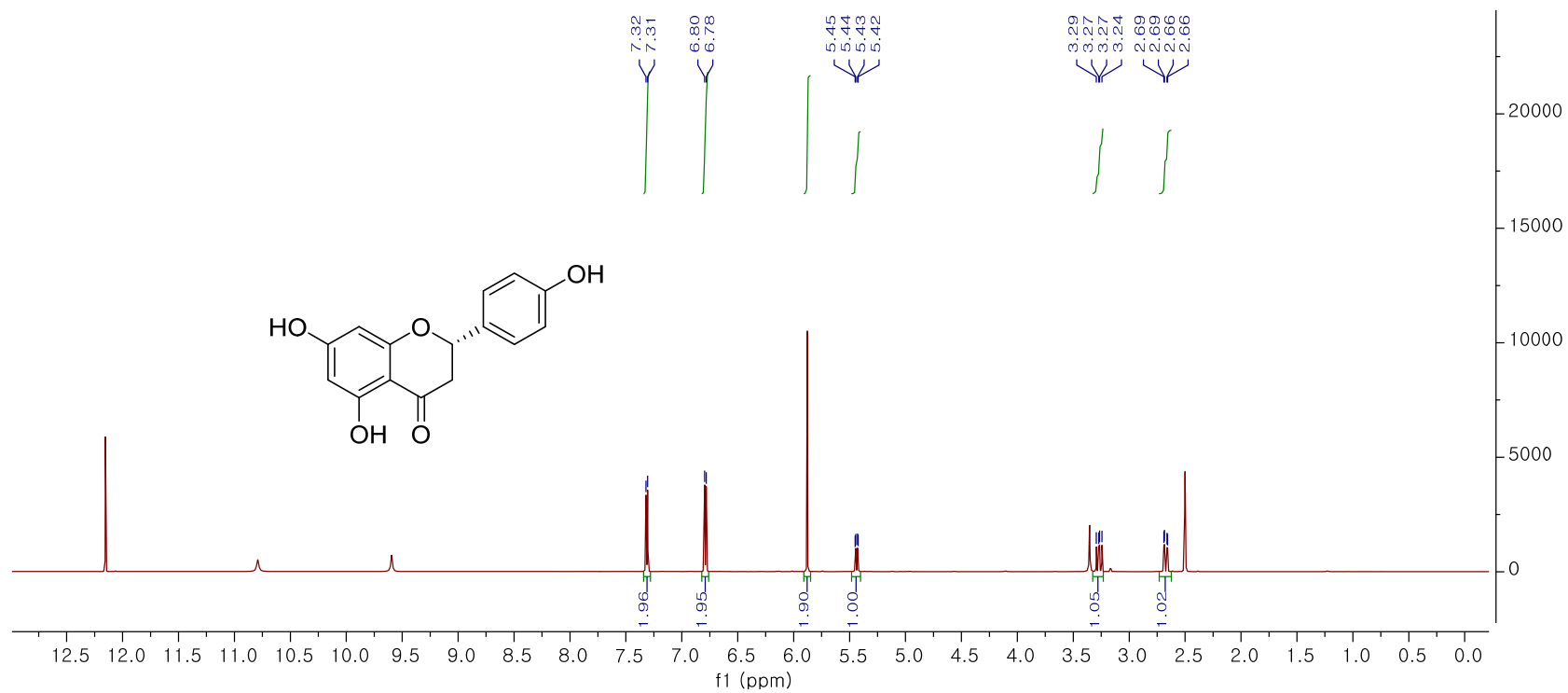


Figure 74. ¹H NMR spectrum of compound 27

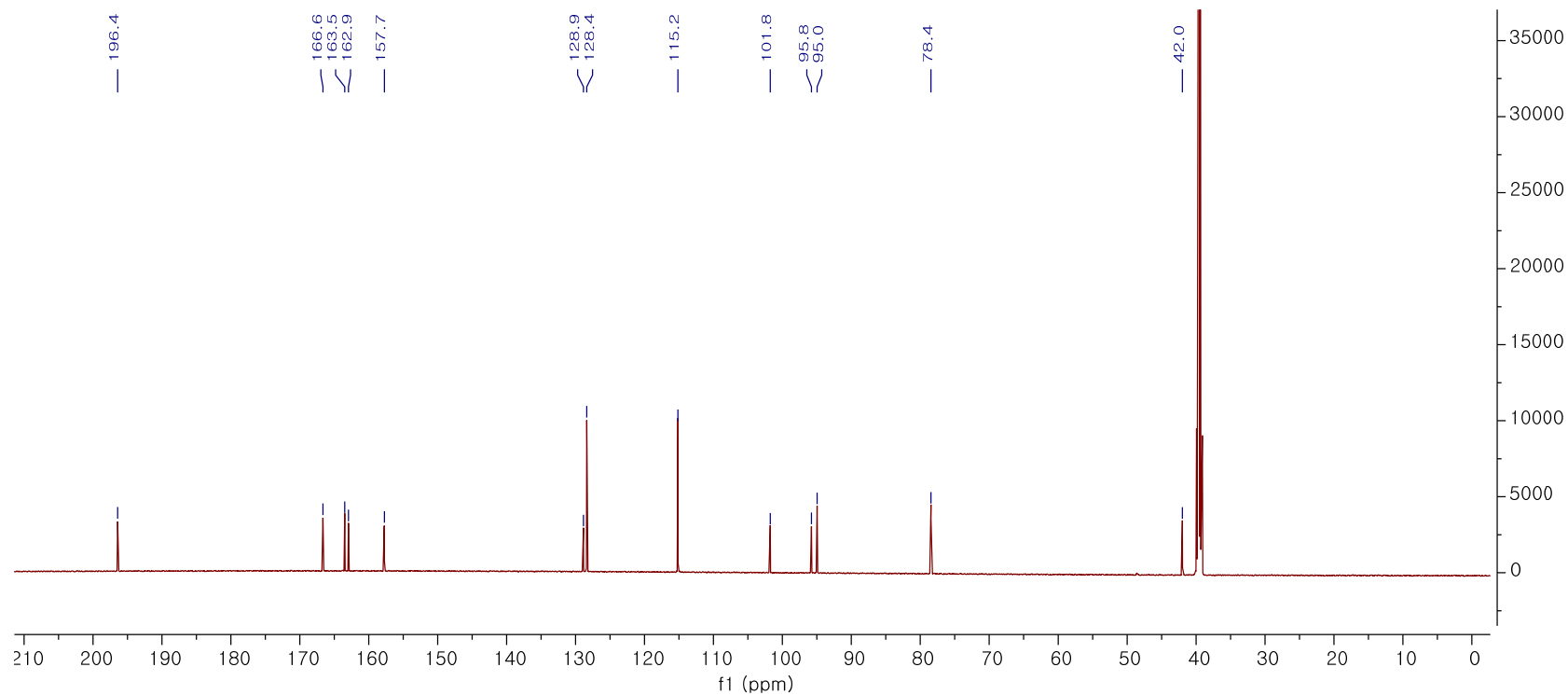


Figure 75. ^{13}C NMR spectrum of compound 27

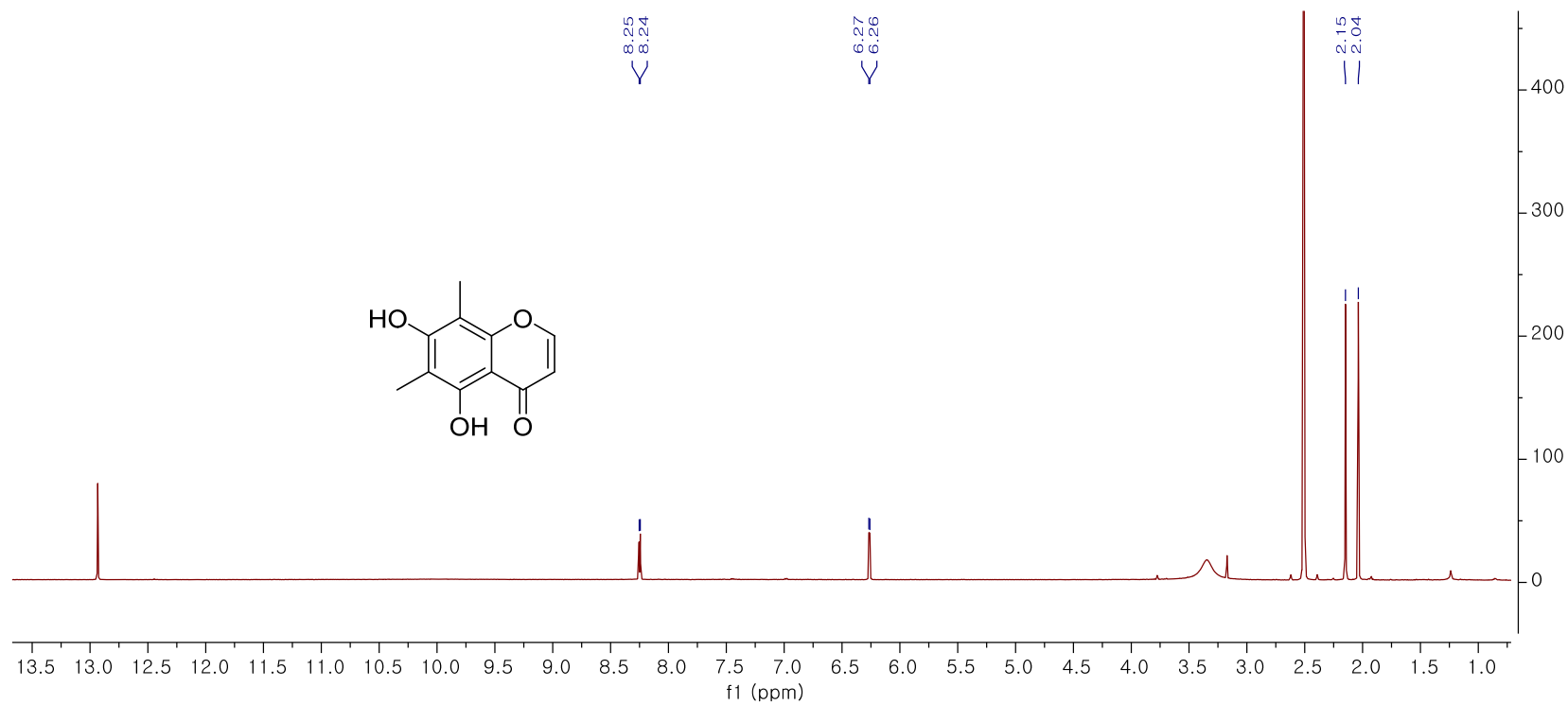


Figure 76. ^1H NMR spectrum of compound 28

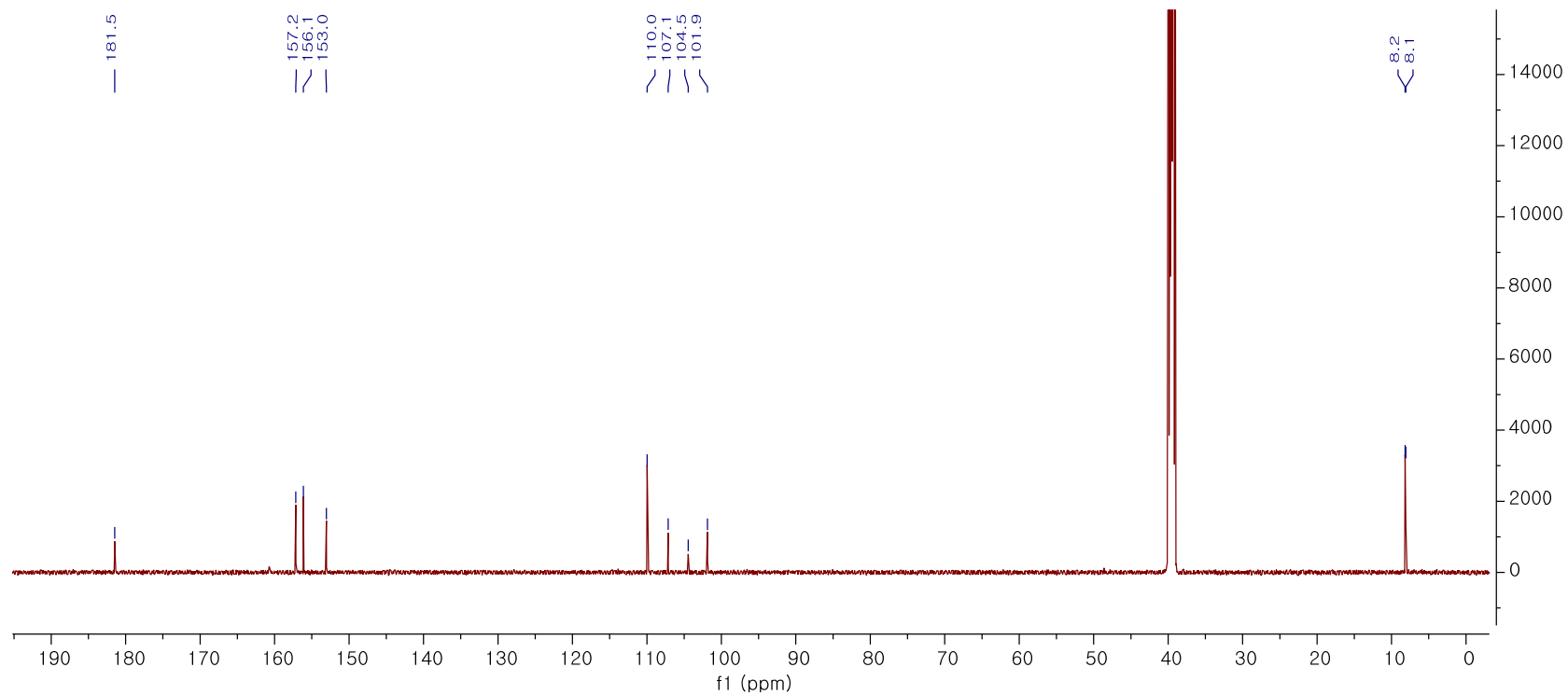


Figure 77. ^{13}C NMR spectrum of compound 28

3.1.27 화합물 29, 30

화합물 29는 흰색의 무정형 분말로 HRESIMS 측정을 통하여 negative mode 에서 m/z 373.1283 $[M - H]^-$ (calcd for 373.1287) 의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{20}H_{21}O_7$ 이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 단일치환된 aromatic ring [δ_H 7.58 (d, $J = 7.5$ Hz), 7.36 (t, $J = 7.6$ Hz), 7.26 (m)]과 1,3,5-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.79 (br s), 6.63 (br s), 6.39 (t, $J = 2.0$ Hz)] 을 가지고 있으며, 한 쌍의 *trans*-olefin 수소 [δ_H 7.15 (d, $J = 16.4$ Hz), 7.10 (d, $J = 16.4$ Hz)]를 확인하여 stilbene 구조임을 유추할 수 있었다. 하나의 anomeric 수소 [δ_H 4.81 (d, $J = 7.6$ Hz)]를 통하여 당이 있음을 확인할 수 있었다. HMBC spectrum 에서 (δ_H 4.81) 와 (δ_C 158.9)의 상호작용을 통하여 stilbene 의 3번위치에 당이 연결되어 있음을 결정할 수 있었다. 모든 결과를 종합하여 화합물 29를 pinosylvlin 3-*O*- β -D-glucoside로 동정할 수 있었다. (Malikov et al., 2002)

화합물 30은 흰색의 무정형 분말로 HRESIMS 측정을 통하여 negative mode 에서 m/z 417.1189 $[M - H]^-$ (calcd for 417.1189) 의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{21}H_{22}O_9$ 이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 단일치환된 aromatic ring [δ_H 7.51 (d, $J = 7.4$ Hz), 7.38 (t, $J = 7.4$ Hz), 7.28 (t, $J = 7.3$ Hz)]과 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.88 (d, $J = 2.1$ Hz), 6.50 (d, $J = 2.2$ Hz)] 을 가지고 있으며, 한 쌍의 *trans*-olefin 수소 [δ_H 7.62 (d, $J = 16.2$ Hz), 7.07 (d, $J = 16.1$ Hz)]를 확인하여 stilbene 구조임을 유추할 수 있었으며, 하나의 carboxylic acid (δ_C 171.2)를 확인하였다. 또한, 하나의 anomeric 수소 [δ_H 4.95 (d, $J = 7.4$ Hz)]를 통하여 당이 있음을 확인할 수 있었다. HMBC spectrum 에서 (δ_H 4.95) 와 (δ_C 160.2)의 상호작용을 통하여 stilbene 의 5번위치에 당이 연결되어 있음을 결정할 수 있었다. 모든 결과를 종합하여 구조를 완성할 수 있었으며, 화합물 30을 gaylussacin으로 동정할 수 있었다. (Askari et al., 1972)

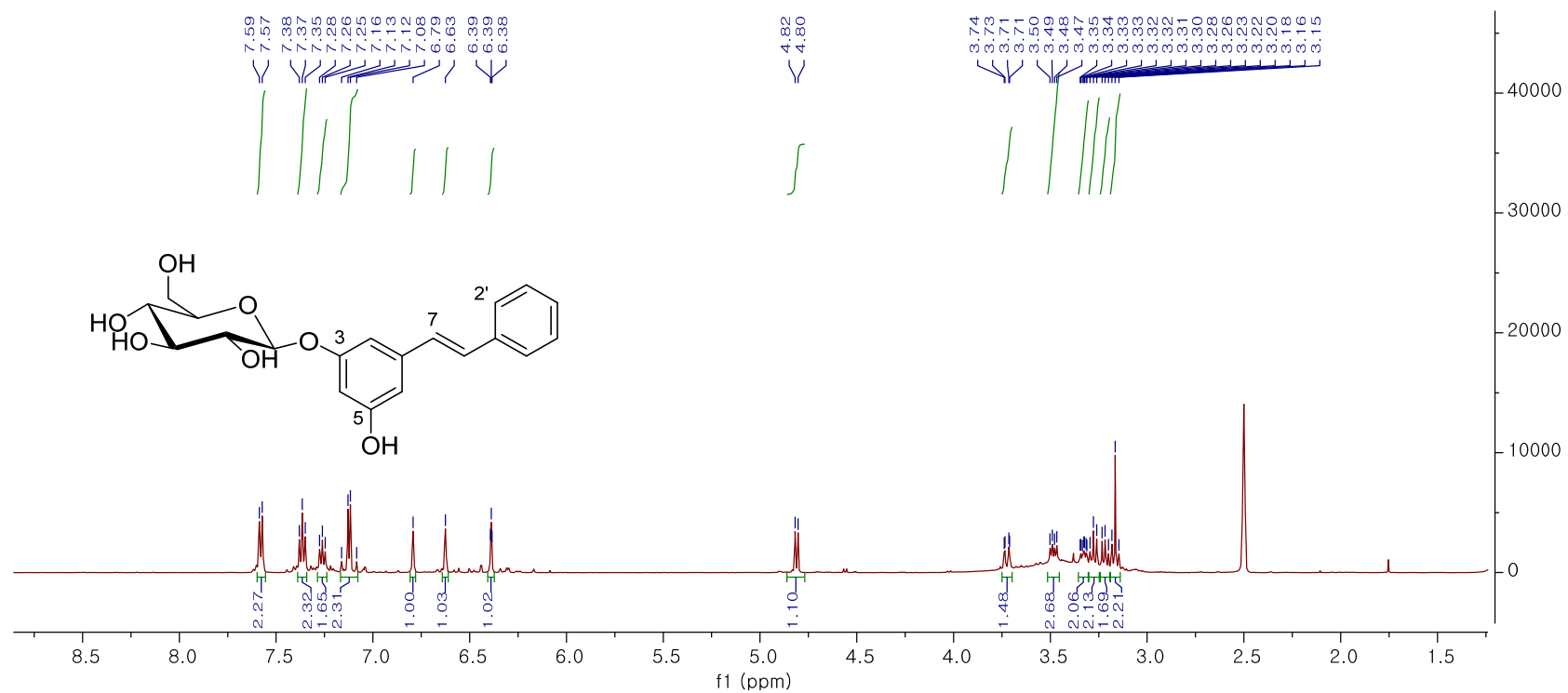


Figure 78. ¹H NMR spectrum of compound 29

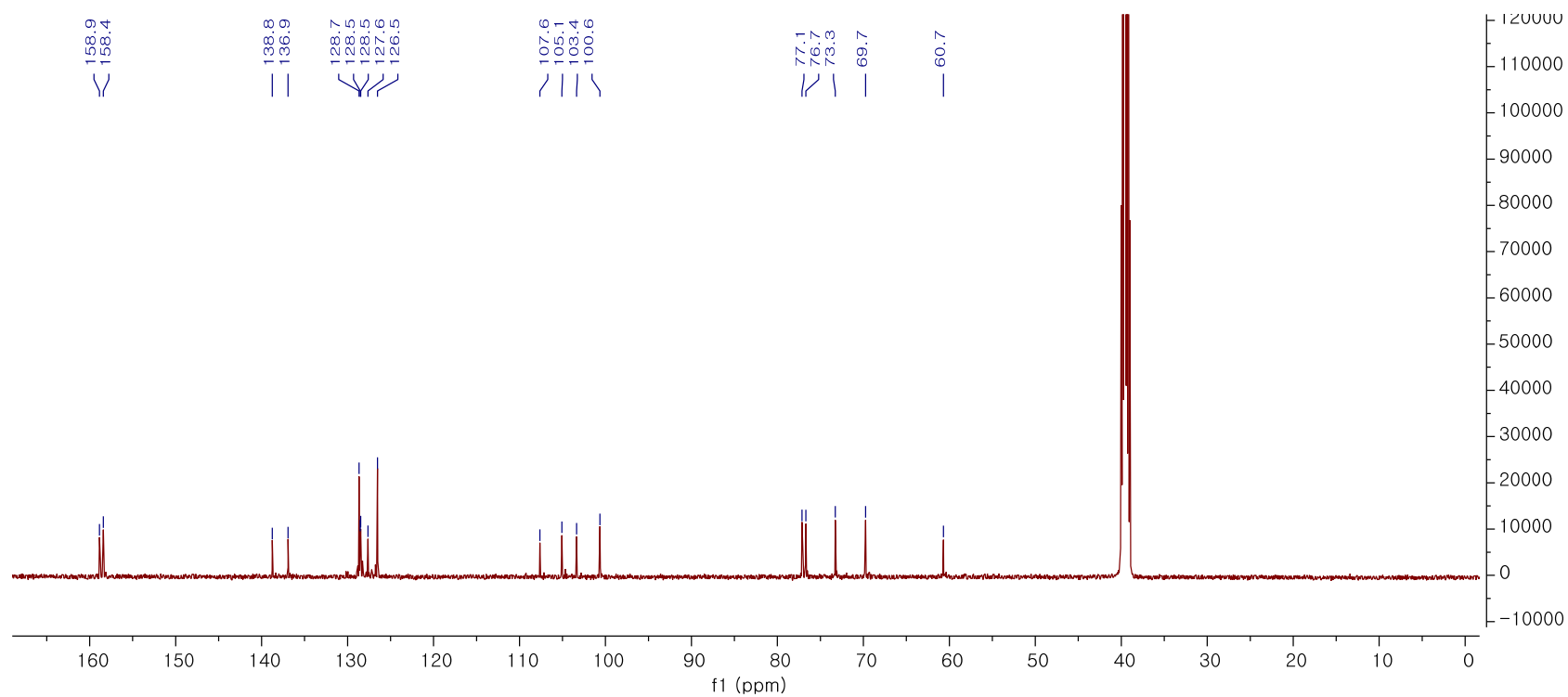


Figure 79. ^{13}C NMR spectrum of compound 29

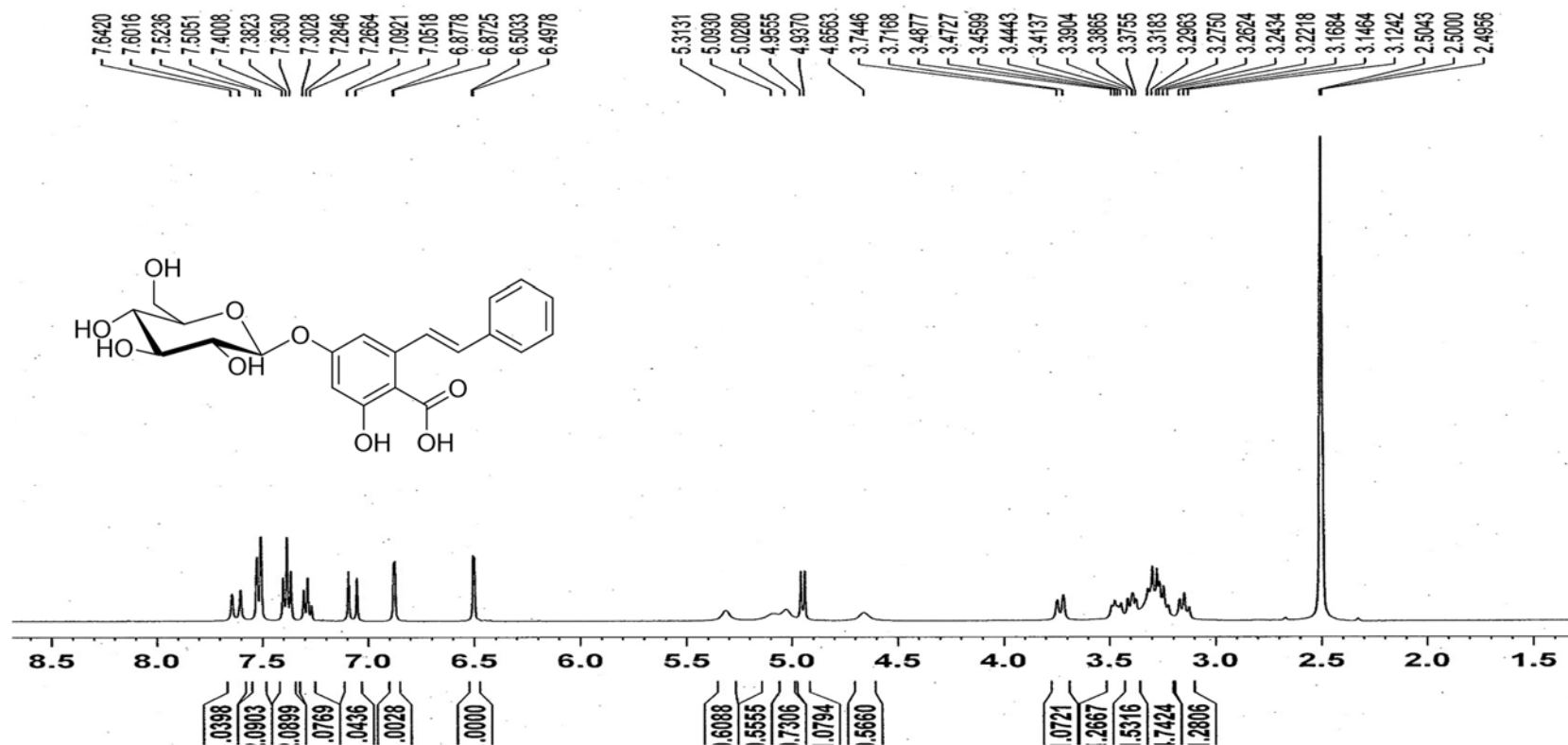


Figure 80. ¹H NMR spectrum of compound 30

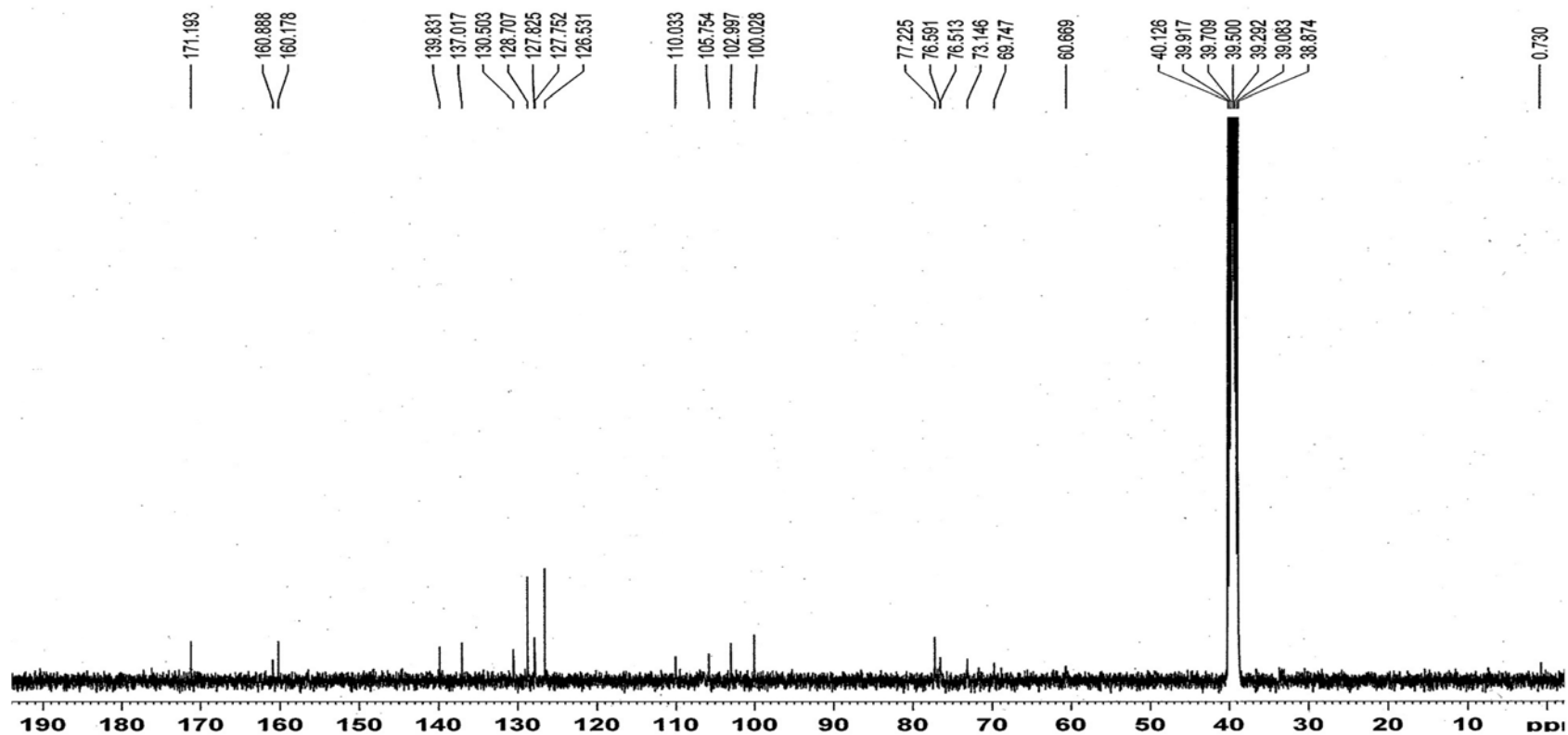


Figure 81. ¹³C NMR spectrum of compound 30

3.1.29 화합물 31, 32

화합물 31는 흰색의 무정형 분말로 HRESIMS 측정을 통하여 negative mode 에서 m/z 271.0603 $[M - H]^-$ (calcd for 271.0606) 의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{15}H_{12}O_5$ 이다. 1H 와 ^{13}C NMR data 를 통하여 1,4-이중치환된 aromatic ring [δ_H 7.29 (d, $J = 8.6$ Hz), 6.74 (d, $J = 8.5$ Hz)] 과 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.28 (d, $J = 2.3$ Hz), 5.94 (d, $J = 2.4$ Hz)] 을 가지고 있으며, 한 쌍의 *trans*-olefin 수소 [δ_H 8.48 (d, $J = 16.3$ Hz), 6.60 (d, $J = 16.3$ Hz)]를 확인하여 stilbene 구조임을 유추할 수 있었으며, 하나의 carboxylic acid (δ_C 172.4)를 확인하였다. HMBC 스펙트럼을 통하여 (δ_H 8.48, 6.28, 5.94) 와 (δ_C 172.4) 와의 상호작용을 통하여 carboxylic acid 기의 위치를 확인하여 stilbene 의 2번위치에 carboxylic acid 가 붙어있는 구조임을 확인 할 수 있었다. 위의 결과를 토대로 화합물 31을 3,5,4'-trihydroxy-*trans*-stilbene-2-carboxylic acid 로 결정하였으며, resveratrollic acid 로 결정하였다.

화합물 32는 화합물 31과 매우 유사한 1H , ^{13}C NMR data 를 가지고 있는 것을 확인 할 수 있었으며, anomeric 수소 [δ_H 4.82 (d, $J = 7.8$ Hz)]를 통하여 하나의 당이 있음을 확인할 수 있었다. 당의 위치는 HMBC spectrum 에서 (δ_H 4.82) 와 (δ_C 158.7)의 상호작용을 통하여 stilbene 의 5번위치에 결합하여 있음을 결정할 수 있었다. 위의 결과를 토대로 화합물 32를 5-(β -D-glucosyloxy)-3,4'-dihydroxy-*trans*-stilbene-2-carboxylic acid 로 결정하였으며, resveratrollic acid 5-*O*- β -D-glucoside 로 명명하였다.

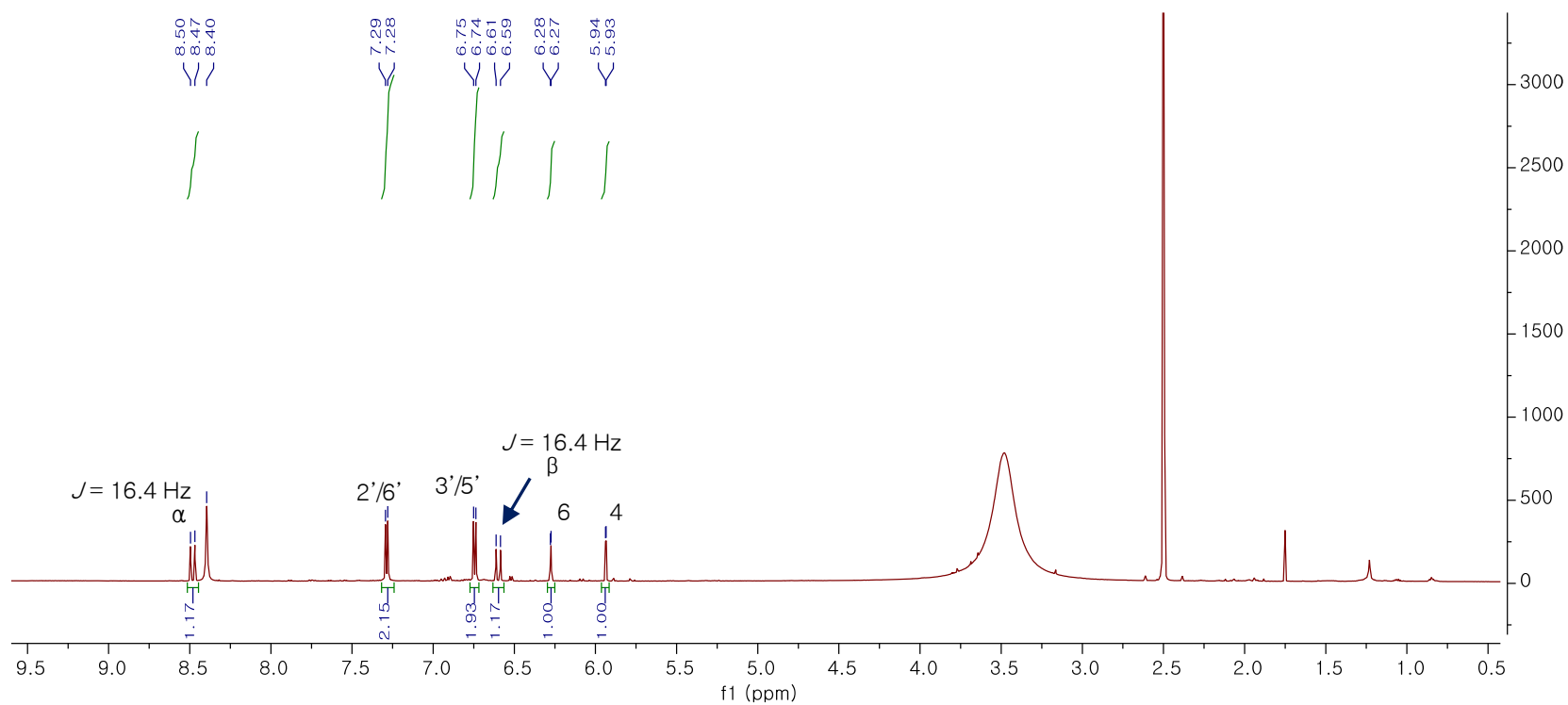


Figure 82. ^1H NMR spectrum of compound 31

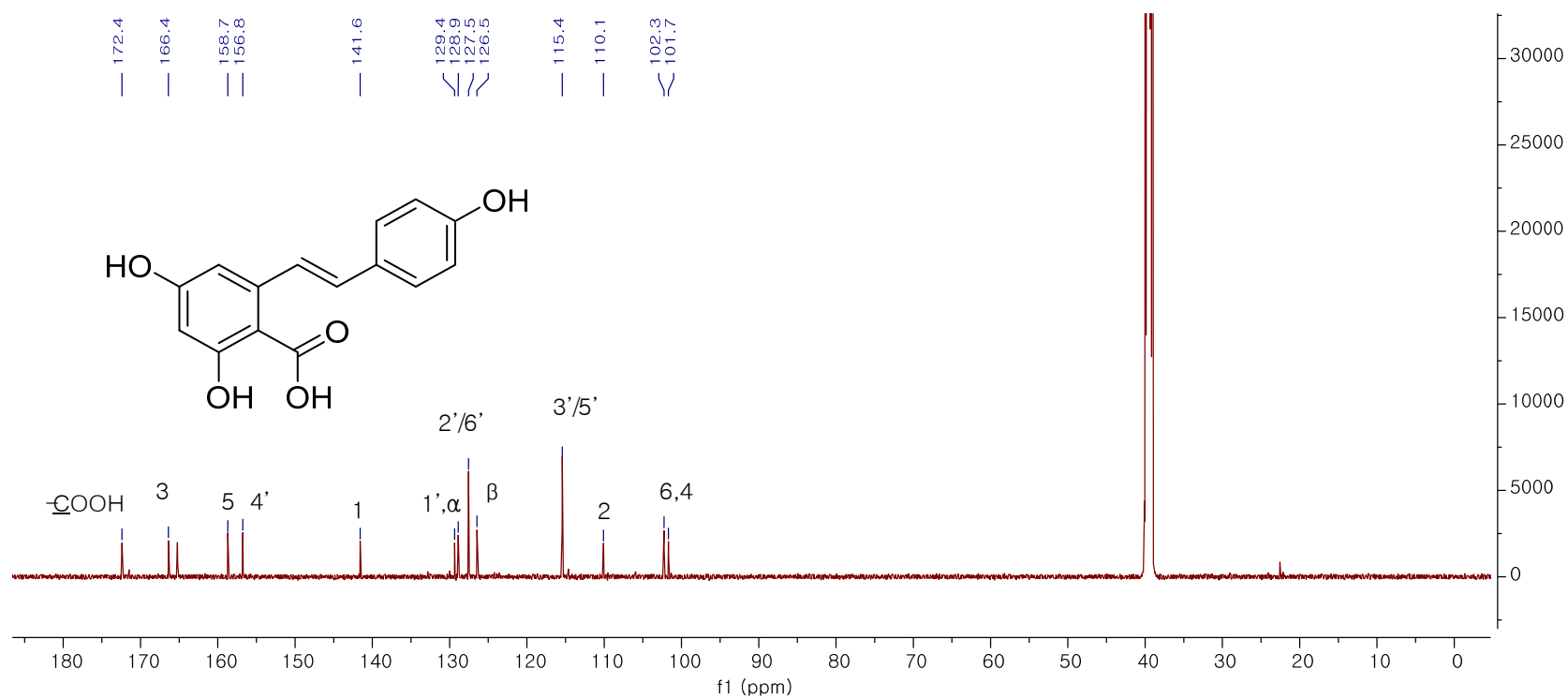


Figure 83. ¹³C NMR spectrum of compound 31

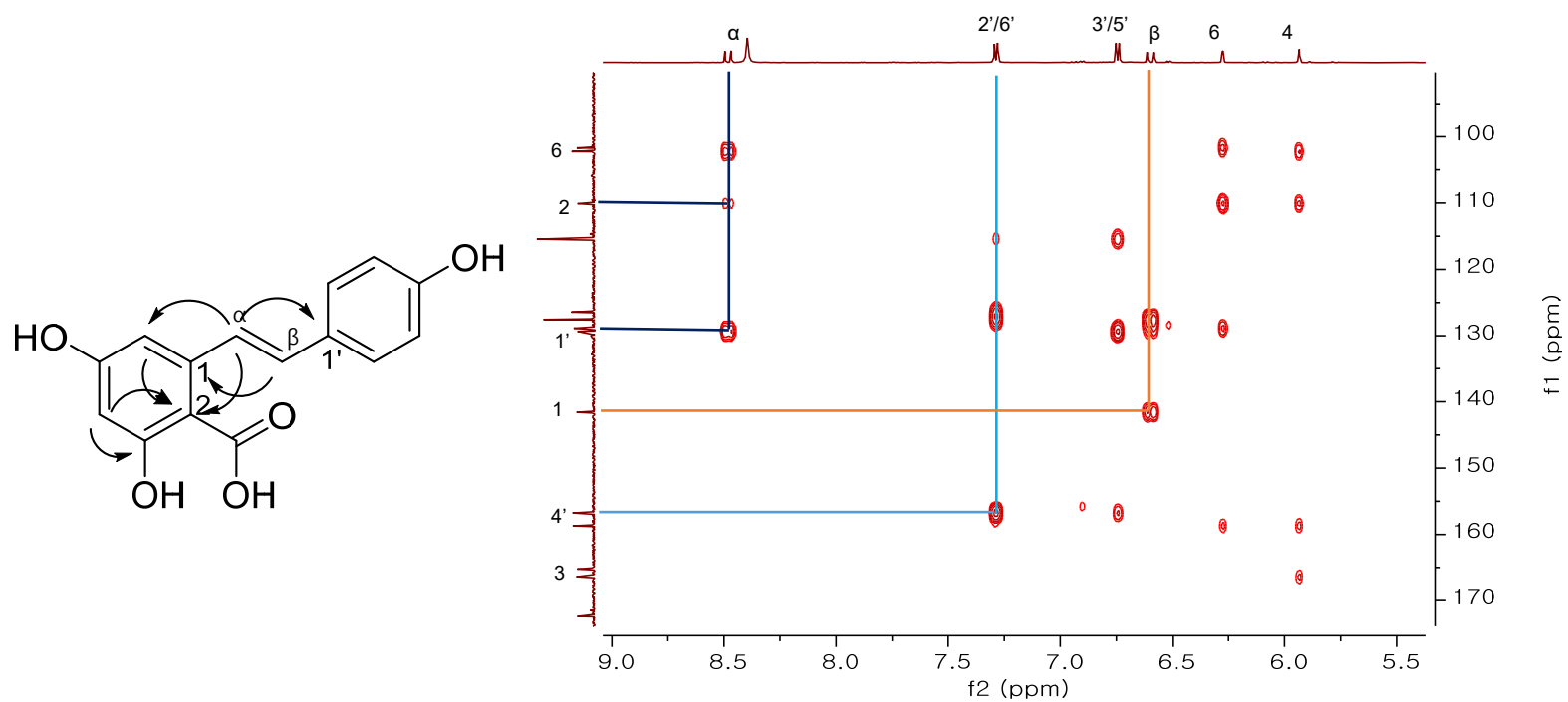


Figure 84. HMBC spectrum of compound 31

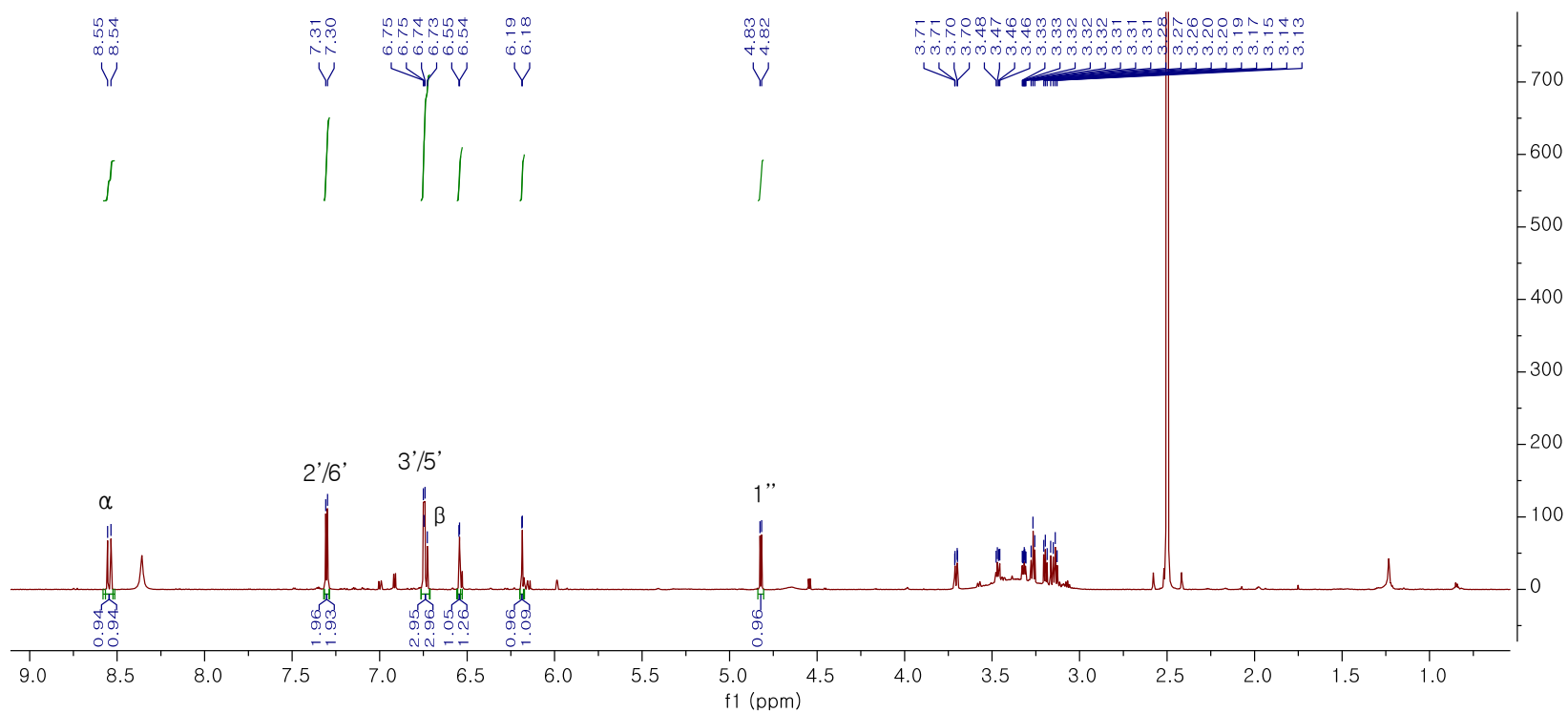


Figure 85. ^1H NMR spectrum of compound 32

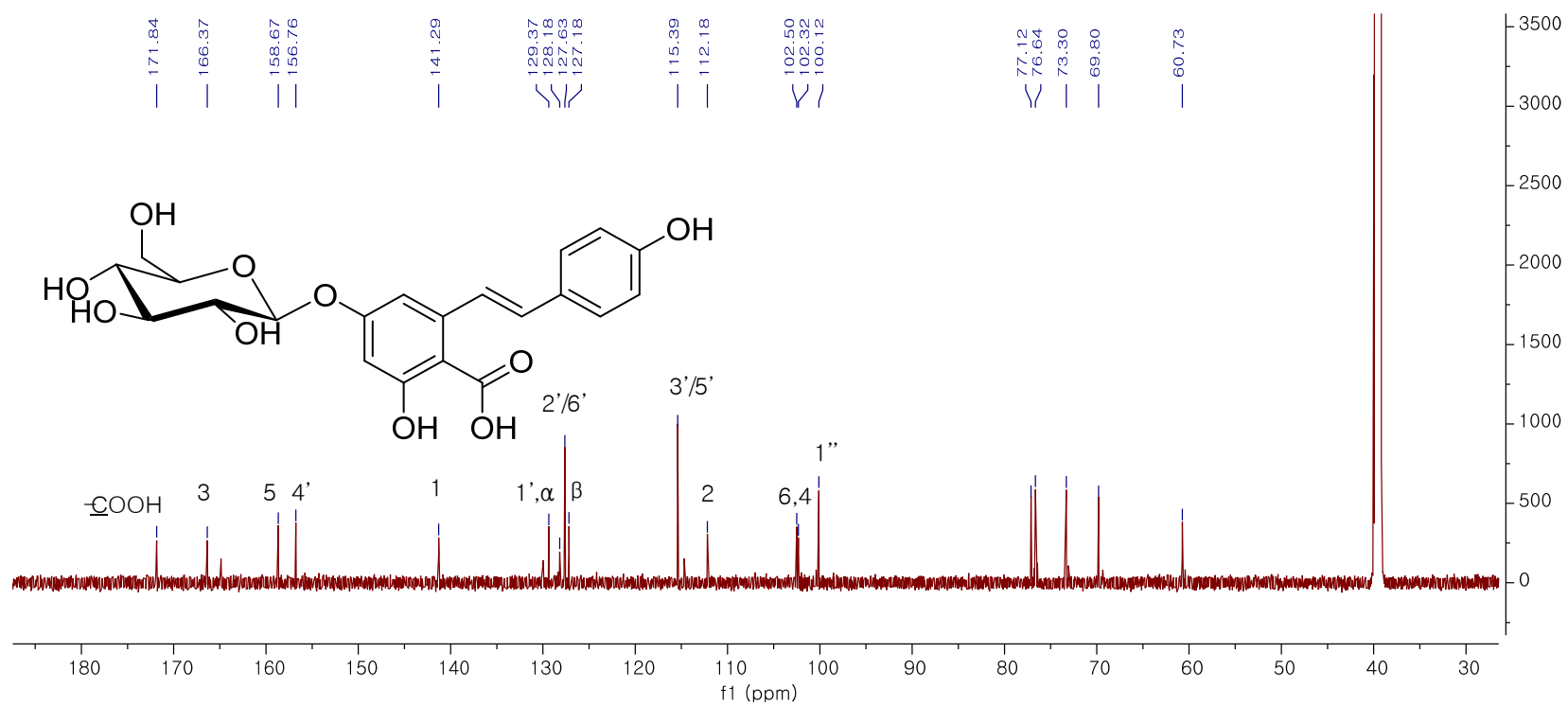
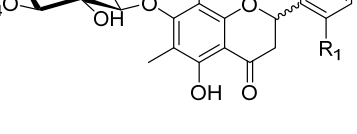
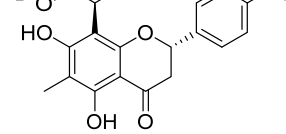


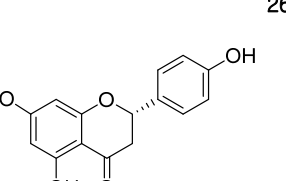
Figure 86. ¹³C NMR spectrum of compound 32



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	
1	H	OCH ₃	H	H	(S)-HMG	H	2 <i>S</i>
2	H	H	H	H	(S)-HMG	H	2 <i>S</i>
3	H	OCH ₃	H	(S)-HMG	H	H	2 <i>S</i>
4	H	H	H	(S)-HMG	H	H	2 <i>S</i>
5	OH	OCH ₃	H	H	H	(S)-HMG	2 <i>S</i>
6	OH	OCH ₃	H	H	H	(S)-HMG	2 <i>R</i>
7	OH	H	OCH ₃	H	H	(S)-HMG	2 <i>S</i>
8	OH	H	H	H	H	(S)-HMG	2 <i>S</i>
9	OH	H	H	H	H	H	2 <i>R</i>
10	H	H	H	H	H	H	Δ ²
14	H	OCH ₃	H	H	H	(S)-HMG	2 <i>S</i>
15	H	H	H	H	H	(S)-HMG	2 <i>S</i>
16	H	H	H	H	H	(S)-HMG	Δ ²
18	H	H	H	H	H	H	2 <i>S</i>
19	H	OCH ₃	H	H	H	H	2 <i>S</i>
20	OH	H	OCH ₃	H	H	H	2 <i>S</i>



	R ₁	R ₂		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
11	H	L-Rha	21	H	OCH ₃	H	H
12	OH	L-Rha	22	H	H	H	H
13	OCH ₃	L-Rha	23	OH	H	H	H
17	OH	H	24	H	H	OH	H
			25	OH	H	H	OCH ₃
			26	H	OCH ₃	H	OH



	R ₁	R ₂		R ₁	R ₂	R ₃
27			29	H	COOH	D-Glc
28			30	H	H	D-Glc
			31	OH	COOH	H
			32	OH	COOH	D-Glc

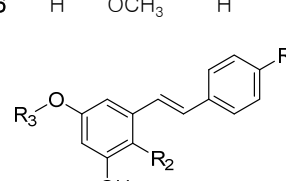


Figure 87. Chemical structures of isolated compounds from *P. orientale*

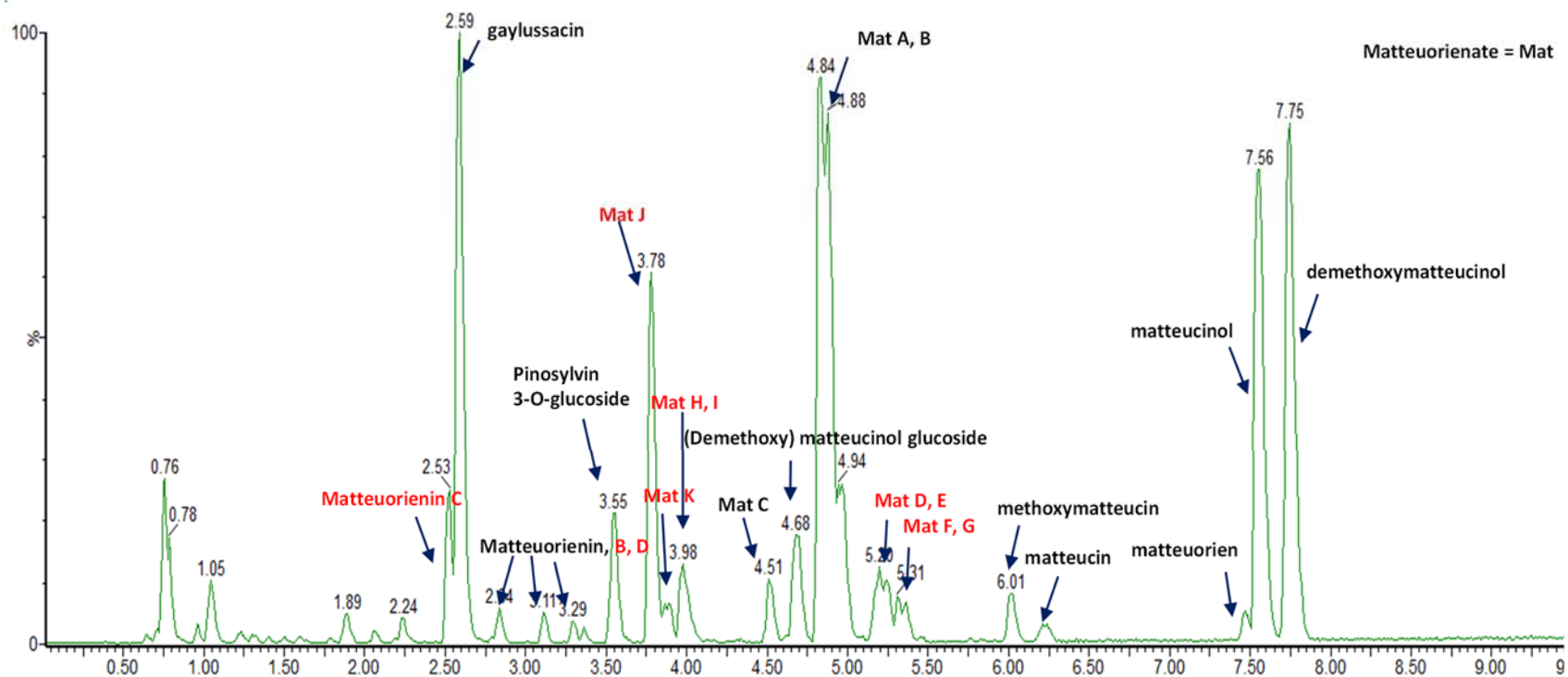


Figure 88. Profiling of isolated compounds from *P. orientale* rhizomes

3.2. 개면마에서 분리한 화합물들의 활성평가

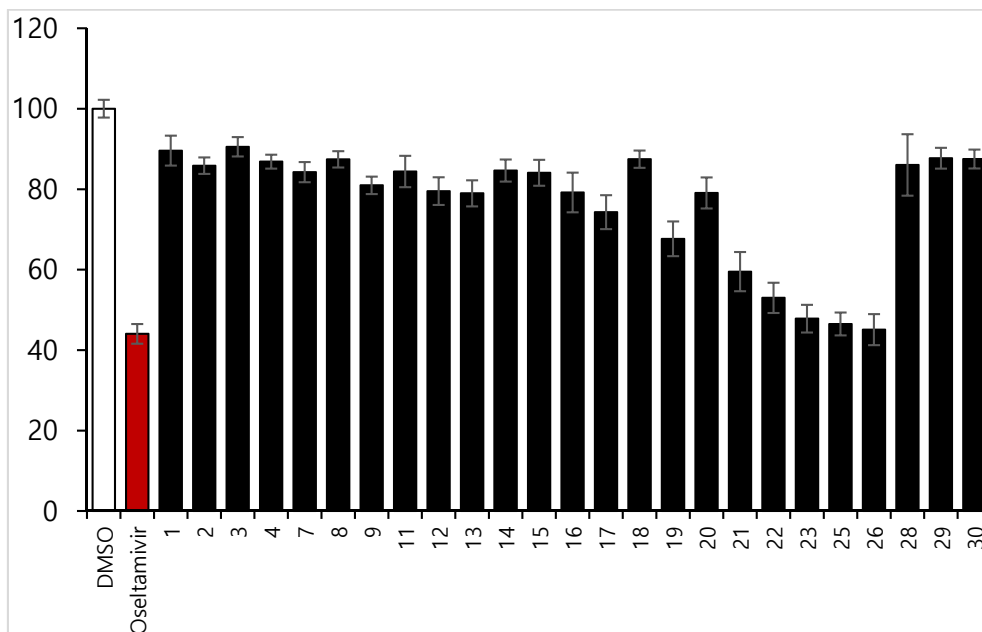


Figure 89. Screening results of isolated compounds from *P. orientale* of neuraminidase activity on H1N1 influenza virus

분리한 화합물들에 대하여 H1N1 인플루엔자 바이러스에 대한 neuraminidase 억제 활성을 평가하였다. 화합물 5, 6, 10, 31, 32 번과 같이 분리한 물질의 양이 적은 경우에는 제외하였으며, 화합물 24 와 27번과 같이 기존에 활성이 없다고 보고된 물질도 제외하였다. (Yu et al, 2015, Kaihatsu et al., 2014) Figure 89에서 나타나는 것처럼 flavonoid aglycone인 화합물 21–26의 neuraminidase 억제 활성 정도가 다른 flavonoid 배당체와 stilbene에 비해서 좋게 나타났다. 상대적으로 활성이 좋게 나타난 화합물들을 선택하여 H1N1 과 H9N2 인플루엔자 바이러스에 대하여 IC₅₀을 평가하였다. (Table 10) 화합물 21–23, 25, 26 은 neuraminidase 억제 활성의 IC₅₀ 값이 23.1 ± 1.7 에서 $31.3 \pm 5.7 \mu\text{M}$ 사이의 범위로 나왔으며, oseltamivir (Hoffman–La Roche Ltd., Basel, Switzerland)를 양성 대조군으로 평가하였다. Neuraminidase 억제 활성의 결과에 근거하여, 이 화합물들의 세포독성과 CPE 실험을 수행하였다. 화합물 21은 MDCK cells 에 대하여 세포독성을 나타냈으며 (CC₅₀,

77.6 ± 2.6 μM), 반면에 다른 화합물들 (22, 23, 25, 26)은 100 μM에서 세포독성을 나타내지 않았다. 화합물 22, 23, 25, 26 은 21.4 에서 30.7 μM 의 농도 사이에서 EC₅₀ 값을 나타냈으며 양성 대조군은 EC₅₀ 의 값이 0.6 μM 으로 나타났다. (Table 10)

Table 10. Inhibitory effects of selected compounds on neuraminidase activities in the H1N1-induced CPE assay^a

compounds	IC ₅₀ H1N1 (μM)	IC ₅₀ H9N2 (μM)	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
21	30.3 ± 3.0	31.3 ± 5.7	30.7 ± 2.0	77.6 ± 2.6
22	25.2 ± 2.4	27.2 ± 3.2	26.9 ± 1.3	> 100
23	23.9 ± 3.0	24.1 ± 1.3	22.9 ± 2.0	> 100
25	24.5 ± 1.5	24.6 ± 0.8	23.0 ± 3.4	> 100
26	24.4 ± 2.0	23.1 ± 1.7	21.4 ± 2.0	> 100
oseltamivir ^b	77.6 ± 9.5 (nM)	19.1 ± 1.3 (nM)	0.6 ± 0.2	N.D. ^c

^aCompounds 21–23, 25, and 26 were selected based on the screening data for H1N1 neuraminidase inhibitory activity (Figure 89).

^bPositive control. ^cNot detected.

제 4장 결 론

1. 개면마 뿌리줄기의 MS 크로마토그램에서 관측된 특이적인 MS fragmentation 값 144는 3-hydroxy 3-methylglutaric acid(HMG)의 fragment 값을 확인 하였으며, 기존 문헌에서 검색되는 3종(matteuorientate A-C)을 포함하여 총 11종의 HMG 잔기를 가지는 화합물을 분리하였다.
2. 각종 크로마토그래피 법을 통하여 1종의 chromone, 4종의 stilbene, 27종의 flavonoid, 총 32종의 화합물을 개면마 뿌리줄기의 80% MeOH 추출물의 CH₂Cl₂, *n*-BuOH, 물 분획에서 분리하였다. 그 중에서 13종의 C-methylated flavonoid 배당체 (1-13) 와 2개의 stilbene (31, 32), 총 15종의 화합물은 천연에서 처음 분리 및 보고하는 물질이다.
3. 분리한 화합물들의 H1N1 인플루엔자 바이러스의 neuraminidase 억제 활성을 평가하였을 때, 화합물 21-23, 25, 26, flavonoid aglycone의 억제 활성이 다른 flavonoid 배당체와 stilbene 보다 높게 나타났다.

**Part 2. 의성개나리 뿌리에서 분리한
dilignans 의 항바이러스활성**

제 1장 서 론

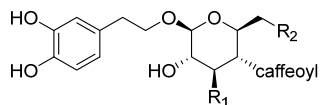
1.1 연구의 배경

개나리속 (Forsythia) 식물은 물푸레나무과 (Oleaceae) 에 속하며, The Plant List (<http://www.theplantlist.org>)에 따르면 현재까지 개나리속 (Forsythia)으로 13종의 식물의 학명이 인정되고 있다. (*F. europaea*, *F. giraldiana*, *F. japonica*, *F. koreana*, *F. likiangensis*, *F. mandschurica*, *F. mira*, *F. ovata*, *F. saxatilis*, *F. suspensa*, *F. togashii*, *F. velutina*, *F. viridissima*) 그 중에서, 우리나라에서 자생하는 식물은 변종을 포함하여 총 8종의 개나리속 식물이 자생하고 있는 것으로 알려져있다. (개나리 (*F. koreana*), 만리화 (*F. ovata*), 긴산개나리 (*F. saxatilis* var. *lanceolata*), 털산개나리 (*F. saxatilis* var. *pilosa*), 산개나리 (*F. saxatilis*), 당개나리 (*F. suspensa*), 장수만리화 (*F. velutina*), 의성개나리 (*F. viridissima*) (2016국가생물종목록, 2016) 예부터 사용되어온 약재인 연교(連翹)는 의성개나리 (*F. viridissima*) 와 당개나리 (*F. suspensa*) 의 열매를 일컬으며, 의성개나리의 지표성분 함량기준은 arctigenin 0.4% 이상이며, 연교의 지표성분 함량기준은 forsythiaside A 0.25% 이상으로 기술되어 있다. (대한민국약전 제 11개정)

개나리속 식물들의 대다수 연구들은 열매에 관한 연구이며, 그 이외에는 줄기 및 가지를 포함하는 지상부에 대한 연구가 보고되어 있다. (Dong et al., 2017, Wang et al., 2018) 반면에 개나리속 식물들의 지하부에 대한 연구는 당개나리의 EtOH 추출물의 식도암에 대한 활성연구 이외에는 찾아보기 힘들다. (Zhao et al., 2014) 개나리속에서 현재까지 보고된 화합물군들을 살펴보면 lignan, caffeic acid 배당체 (phenylethanoid 배당체), flavonoid, terpenoids, cyclohexylethanol, alkaloid, steroidal, iridoid 계열이 보고 되어있으며, 그 중에서 lignan 과 caffeic acid 배당체 계열이 주된 화합물 군이다. (Figure 90) (Dong

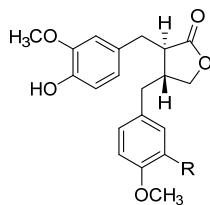
et al., 2017, Wang et al., 2018) 개나리속 식물들간의 lignan 계열의 차이를 확인 할 수 있었으며, 특히 의성개나리에서는 arctigenin, matairesinol, arctiin 과 같이 dibenzylbutyrolactone 계열의 lignan 이 주성분으로 보고되었고, 당개나리에서는 phillyrin, pinoresinol, phillygenin 과 같은 furofuran ring 계열의 lignan 이 주성분으로 알려져있다. 개나리속 식물의 추출물 또는 분리보고된 화합물에 대하여 수행한 생리활성으로는 ‘연교’의 항염증활성 이외에도 항산화, 항바이러스, 뇌신경보호활성, 간보호활성 등의 연구를 확인 하였다. (Table 11) (Dong et al., 2017, Wang et al., 2018) Forsythoside A 는 생리활성 논문들 대부분의 활성물질로 보고되었으며, lignan 중에서는 phillyrin 이 대표적인 활성물질로 보고되어 있다. 최근까지의 연구들을 종합하여 보았을 때, 개나리속식물들 중에서 당개나리의 연구가 제일 활발하며, 당개나리의 대표 성분인 phillyrin 과 forsythoside A 가 개나리속 식물들에 대한 대부분의 연구를 차지하고 있음을 알 수 있었다.

Phenylethanoid Glycosides

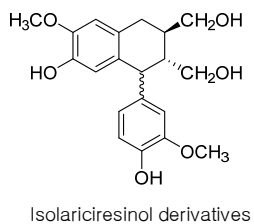
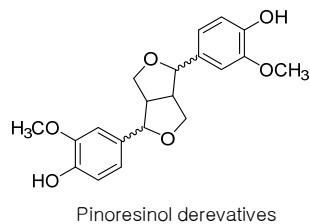


R ₁	R ₂	
OH	<i>O</i> -α-L-rha	Forsythoside A
<i>O</i> -α-L-rha	OH	Acteoside

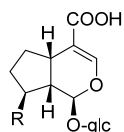
Lignans



R	
OH	Matairesinol
OCH ₃	Arctigenin

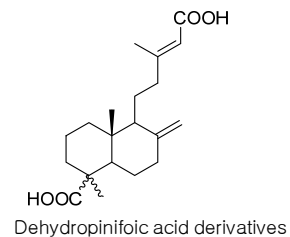
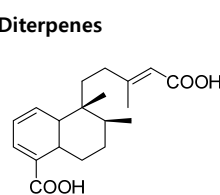


Iridoids

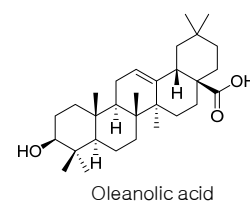
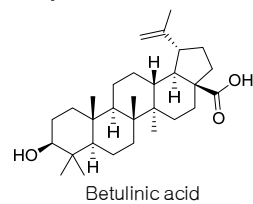


R	
COOH	Forsythide
CH ₂ OH	Adoxosidic acid

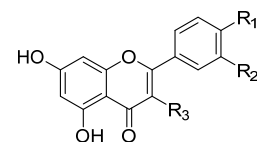
Diterpenes



Triterpenes



Flavonoids



R ₁	R ₂	R ₃	
H	OH	<i>O</i> -β-D-glc- <i>O</i> -α-L-rha	Rutin
OH	OH	OH	Quercetin
OCH ₃	OH	OH	Isorhamnetin

Figure 90. Chemical structures of reported compounds in *Forsythia*

Table 11. Pharmacological studies reported in *Forsythia*

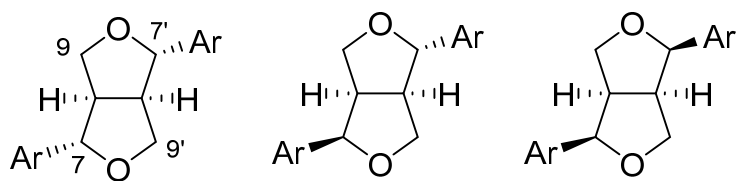
Therapeutic Target	In vitro/vivo assay	Extracts/ Active constituents	Reference
Anti-inflammatory	LPS/D-galactosamine-induced acute liver injury mice	Forsythoside A	Pan et al., 2015
	LPS-induced acute lung injury male BALB/c mice	Phillyrin	Lee et al., 2011
	NF- κ B signaling pathway	Forsythiaside	Cheng et al., 2014
Antioxidant	Lipid peroxidation	Pinoresinol and 7 others	Chang et al., 2008
Antiviral	H1N1-infected MDCK cells	80% EtOH extract	Su et al., 2010
	C57BL/6J mice	Forsythoside A	Deng et al., 2016
	Male BALB/C mice	Phillyrin	Qu et al., 2016

Neuroprotective Activity	Glutamate or low-glucose and low-serum or A25-35-stimulated PC12 cells	Forsythoside A	Sun et al., 2013
	MPP ⁺ -stimulated SH-SY5Y neuroblastoma cells	Phillyrin	Zhang et al., 2011
Hepatoprotective Activity	Bovine serum albumin-induced hepatic fibrosis in rats	Forsythoside A	Wang et al., 2015

1.1.1. Lignan 의 입체구조 규명

Lignan은 결합하는 형태에 따라서 dibenzylbutane, dibenzylbutyrolactone, tetrahydrofuran, furofuran, aryltetraline, aryl-naphthalene, dibenzocyclooctadiene 계열로 나눌 수 있다. 이러한 lignan들은 aromatic ring에서는 한정적인 치환패턴을 보이지만, 그 이외에 나타나는 methylene, oxymethylene, methine, oxymethine은 결합되는 위치, 치환정도에 따라 다양한 입체구조를 가질 수 있기 때문에, lignan의 구조해석에 있어서 입체구조를 결정하는 것이 매우 중요하다. 개나리속 식물에서 가장 주된 lignan 계열은 furofuran ring 계열과 dibenzylbutyrolactone 계열 (DBL) 이며, 각 계열의 대표적인 화합물로는 pinoresinol 과 arctigenin 이 있다. 일반적으로 lignan 의 입체구조 결정에는 NMR 와 CD spectrum의 측정을 통해 입체구조를 결정한다. (Ayres et al., 1990)

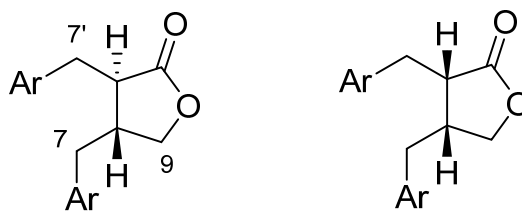
Furofuran lignan 의 입체구조를 결정하기 위해서는 1D NMR spectrum 을 주로 이용한다. (1) ^1H NMR 을 확인하여, 7, 7'번과 8, 8'번의 수소들이 동등한 위치에 존재하는지 우선적으로 확인하여 대칭구조인지 판별해야 한다. (2) 대칭적인 구조가 아닐 경우, 9, 9'번 수소 중 하나가 가려짐현상으로 화학이동을 하여 Figure 91 의 epi-구조의 값들을 가진다. (3) dia-구조의 9, 9' 수소들은 가려짐 현상으로 화학이동을 한다. (1)-(3) 의 경우를 통하여, furofuran ring 의 대칭구조를 우선적으로 판별하고, NMR 값들을 확인하여 기존문헌과의 비교를 통해 입체구조를 결정 할 수 있다.



position	δ_H / δ_C		
		epi-	dia-
H-7	4.75/85.8	4.45/87.5	4.90/84.0
H-7'		4.85/82.0	
H-8	3.15/54.3	2.90/54.4	3.15/49.5
H-8'		3.30/50.1	
H-9' β	3.8-4.0/71.7	3.35/70.9	3.3-3.65/68.8
H-9 β		3.85/69.6	
H-9' α	4.2-4.4/71.7	3.85/70.9	3.65-4.0/68.8
H-9 α		4.13/69.6	

Figure 91. ^1H and ^{13}C NMR shifts of furofurans

DBL 의 입체구조 결정은 8, 8' 의 ^1H NMR spectrum 값을 통하여 상대적인 입체구조를 결정하고, (Figure 92) ECD spectrum 측정을 통하여 절대구조를 결정할 수 있다. (1) 일반적인 DBL 의 경우, 두 methine 수소 (8, 8') 의 상대적인 위치는 9번 수소들의 차이를 통하여 결정 할 수 있다. (2) DBL의 절대구조는 상대구조 결정 후에 UV 흡광 값인 210, 230, 280 nm 중에서 230, 280 nm 부근의 negative/positive Cotton effect 여부를 통해 8*R*,8'*R* 또는 8*S*,8'*S*를 결정할 수 있다. (Bayley et al., 1980)



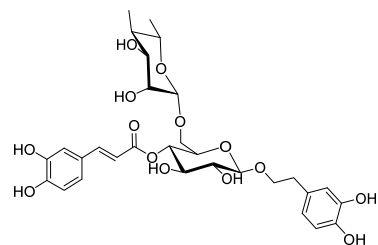
position	<i>trans</i>	<i>cis</i>
	δ_{H}	
7 α	2.50	2.33
7 β	2.61	2.95
7' α	2.91	2.76
7' β	3.00	3.25
8	2.50	2.66
8'	2.59	3.07
9 α	3.87	4.04
9 β	4.14	4.06

Figure 92. Chemical shifts of aliphatic protons in lactones

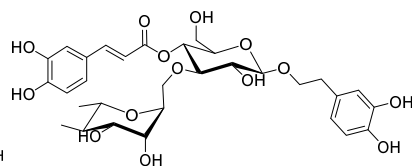
1.1.2. 의성개나리에 대한 문헌 고찰

의성개나리(*Forsythia viridissima* Ldl.)는 우리나라에서 자생하는 개나리속 식물 중 하나이며, 당개나리와 함께 연교의 기원식물로 대한민국의약전에 기재되어있다. 의성개나리에서 보고된 화학성분 군으로는 lignan, lignan 배당체, caffeic acid 배당체, triterpenoid, flavonoid, iridoid 계열 등이 있다. (Lee J. H. et al., 2011, Kang H. S. et al., 2008, Lee J. Y. et al., 2010, Tokar M. et al., 2004), (Figure 93) 의성개나리의 주된 화합물 군은 caffeic acid 배당체와 지표성분으로 기재되어있는 arctigenin 과 같은 dibenzylbutyrolactone 계열의 lignan 이다. 의성개나리에서 mataireisnol, arctigenin 과 그 배당체 이외의 dibenzylbutyrolactone lignan 에 관한 보고는 확인 할 수 없었다. 의성개나리에서 보고된 생리활성은 항염증, HepG2 세포를 이용한 지질 대사, 항산화 등의 연구가 보고되어있으며, 대부분 열매에 관한 연구들이다. (Cho et al., 2004, Lee et al., 2011, Yang et al., 2011) 연교의 또 다른 기원식물, 당개나리에 비하여 의성개나리의 화학성분 및 생리활성에 관한 연구가 미진함을 확인하였다.

Caffeic acid glycoside

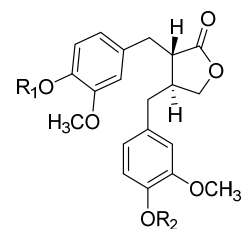


Forsythiaside A

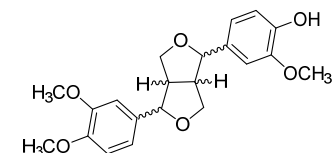


acteoside

Lignan

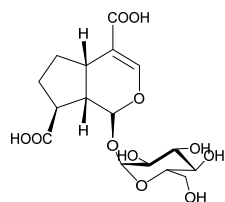


R ₁	R ₂	
H	H	matairesinol
Glc	H	matairesinoside
H	CH ₃	arctigenin
Glc	CH ₃	arctiin



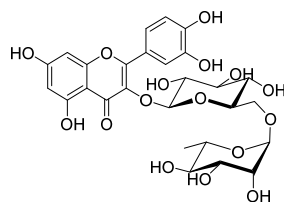
Pinoresinol methyl ether

Iridoid



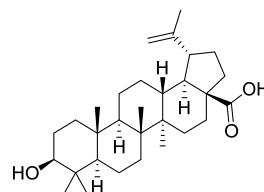
forsythide

Flavonoid

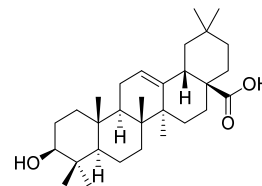


rutin

Triterpene



Betulinic acid



oleanolic acid

Figure 93. Chemical structures of reported compounds from *F. viridissima*

1.2. 연구의 목적

의성개나리의 문헌조사를 통하여 당개나리와 공통적인 주성분은 caffeic acid 배당체 (phenylethanoid 배당체)들이며, 차이가 나는 주성분은 lignan 계열임을 확인하였다. 당개나리에서는 furofuran ring 계열의 lignan 을, 의성개나리에서는 dibenzylbutyrolactone 계열의 lignan 을 주성분으로 한다. 당개나리에 대한 화학성분들에 대한 많은 연구가 있으며, lignan 의 주성분으로 알려진 phillyrin 을 포함한 매우 다양한 furofuran ring 유도체들과 그 생리활성이 보고되어있다. 반면에, 의성개나리의 lignan 에 관한 연구는 arctigenin, matairesinol, arctiin, matairesinoside 이외에 찾기가 힘들어 상대적으로 화학적 다양성이 떨어지는 것을 알 수 있었다.

이에 본 연구에서는 의성개나리의 dibenzylbutyrolactone 계열의 lignan 을 추가적으로 확보하기 위하여 의성개나리의 뿌리, 잎, 열매, 줄기와 가지, 총 네 부위로 나누어 이들의 MS 크로마토그램을 측정하였다. (Figure 94) 네 부위의 MS 크로마토그램을 비교 하였을 때, 공통적으로 caffeic acid 배당체들을 확인하였으며, matairesinol, arctigenin 과 그 배당체들을 확인하였다. 그 중, 뿌리 부분에서 matairesinol 과 arctigenin 분자량의 두배 정도의 값을 가지며 dilignan으로 추정되는 분자량을 가지는 피크를 확인하여, 그 존재를 확실히 판단하기 위하여 뿌리 추출물을 극성에 따라 분획하여 *n*-hexane, CH₂Cl₂, *n*-BuOH, 물층 총 네 개의 분획으로 나누어 MS 크로마토그램을 다시 측정하였다. (Figure 95) 측정한 네 개의 분획에 대하여 크로마토그램을 비교하였을 때, 극성이 높은 *n*-BuOH 분획과 물층에는 caffeic acid 배당체와 lignan 배당체로 추정되는 물질들을 확인하였으며, 저극성인 *n*-hexane 분획에는 lignan 과 fatty acid 물질들을 확인 하였다. 중간 극성에 해당하는 CH₂Cl₂ 분획에서 dilignan 으로 추정되는 물질들의 피크들이 뿌리의 총 추출물에서 확인한 것보다 상대적으로 피크가 더 크고, 다수의 dilignan 피크들을 확인 할 수

있었다. 본 연구에서는 의성개나리에서 dibenzylbutyrolactone 계열의 lignan 을 확보하여 의성개나리의 부족한 화학성분 스펙트럼을 넓힘과 동시에 당개나리에서 분리보고된적이 없는 dilignan 을 확보하여 두 식물을 구분할 수 있는 화학성분을 마련하는데 이바지하고 하였다. 또한 분리한 dibenzylbutyrolactone 계열의 lignan 에 대하여 장내세균 바이러스인 CVB3 (coxsackievirus B3) 와 HRV1B (human rhinovirus 1B) 에 대하여 항바이러스 활성을 평가하였다.

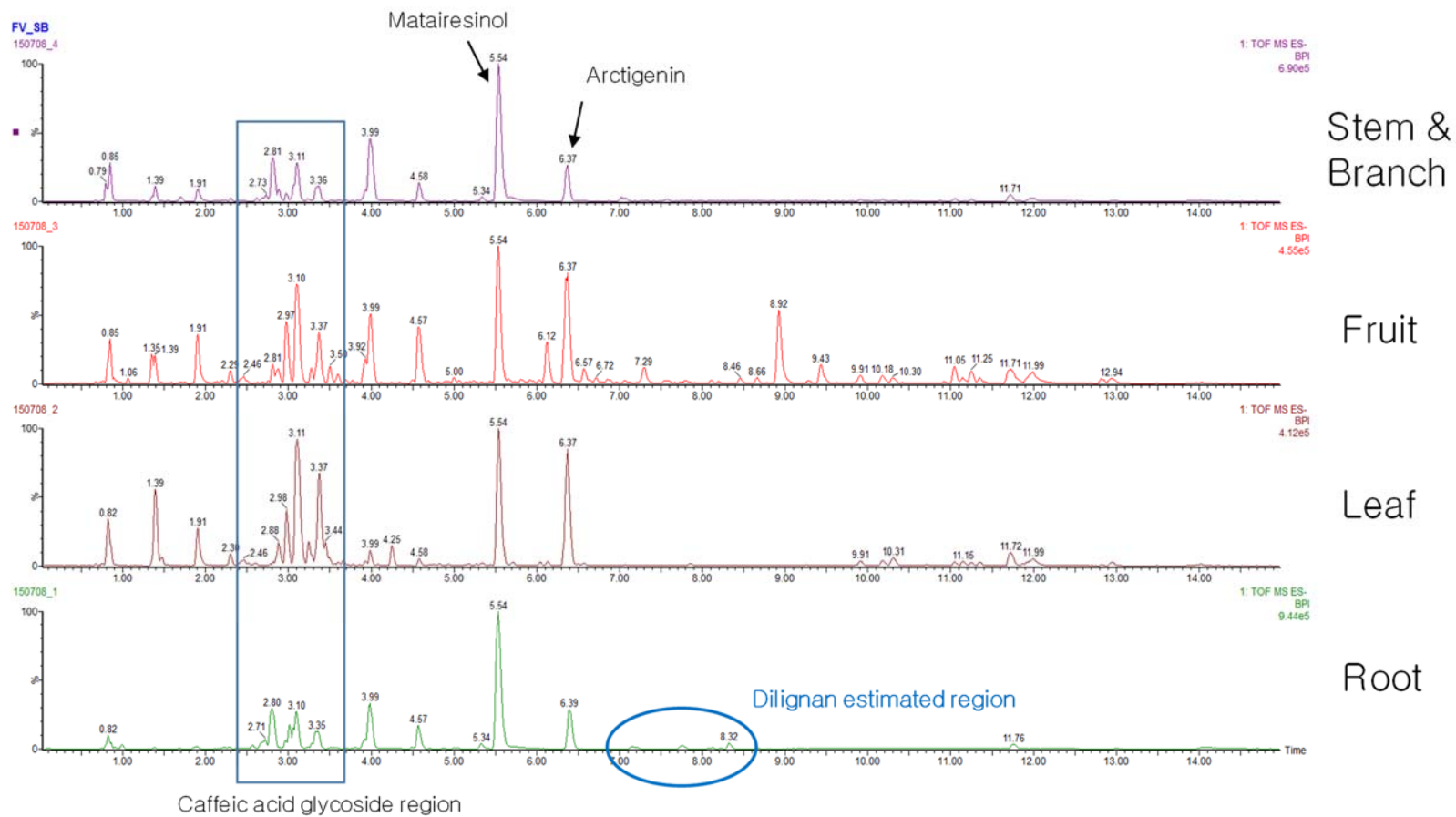


Figure 94. MS chromatogram of the parts of *F. viridissima*

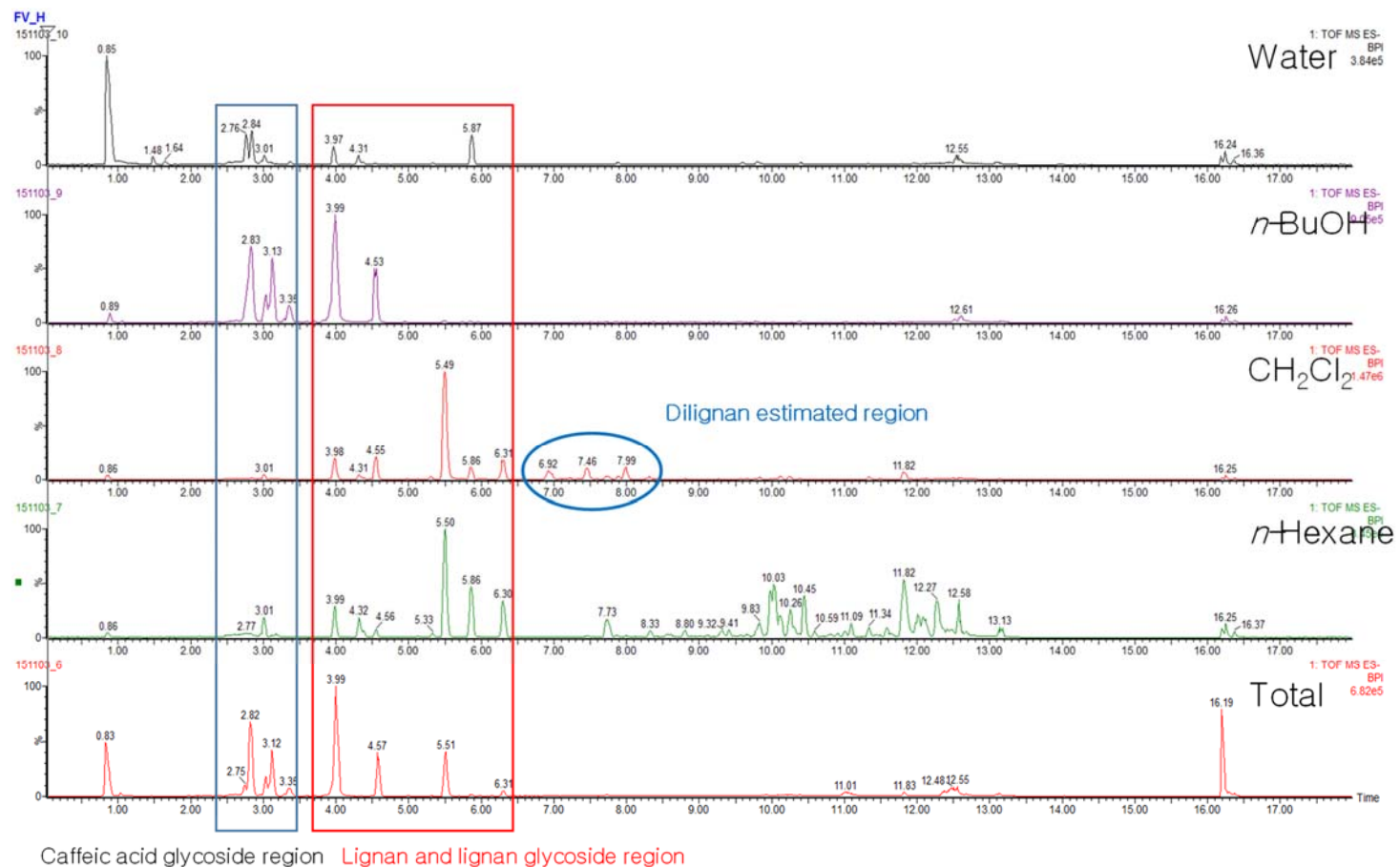


Figure 95. MS Chromatograms of the fractions of *F. viridissima* root

제 2장 실험 재료와 방법

2.1. 재료

2.1.1 식물 재료



Figure 96. Aerial parts (left) and roots (right) of *F. viridissima*

본 연구에 사용된 의성개나리 (*Forsythia viridissima*)는 2015년 6월에 서울대학교 약초원 (경기도 고양시 일산동구) 에서 채집을 하였으며, 한상일 (서울대학교 약초원) 소장님께서 동정해주셨다. 이 식물의 표본(FV_R)은 서울대학교 생약학연구실에 보관하고 있다.

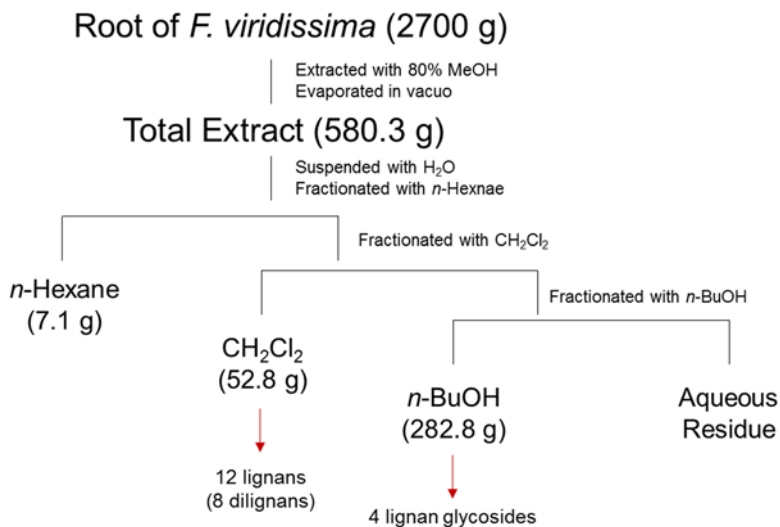
2.1.2. 시약 및 기기

– Part 1 – 2.1. 재료 – 2.1.2. 시약 및 기기와 동일

2.2. 실험 방법

2.2.1. 의성개나리의 추출 및 분획

건조된 개나리 뿌리 (2700 g)를 80% MeOH로 실온에서 90분씩 3회 추출하였고, 감압 농축하여 총 580.3 g의 추출물을 얻었다. 총 추출물을 증류수로 현탁한 후, 이를 용매의 극성에 따라 *n*-hexane, CH₂Cl₂, *n*-BuOH로 분획하여 각각의 분획물을 얻었다. (Scheme 3)



Scheme 3. Extraction and fractionation of *F. viridissima* roots

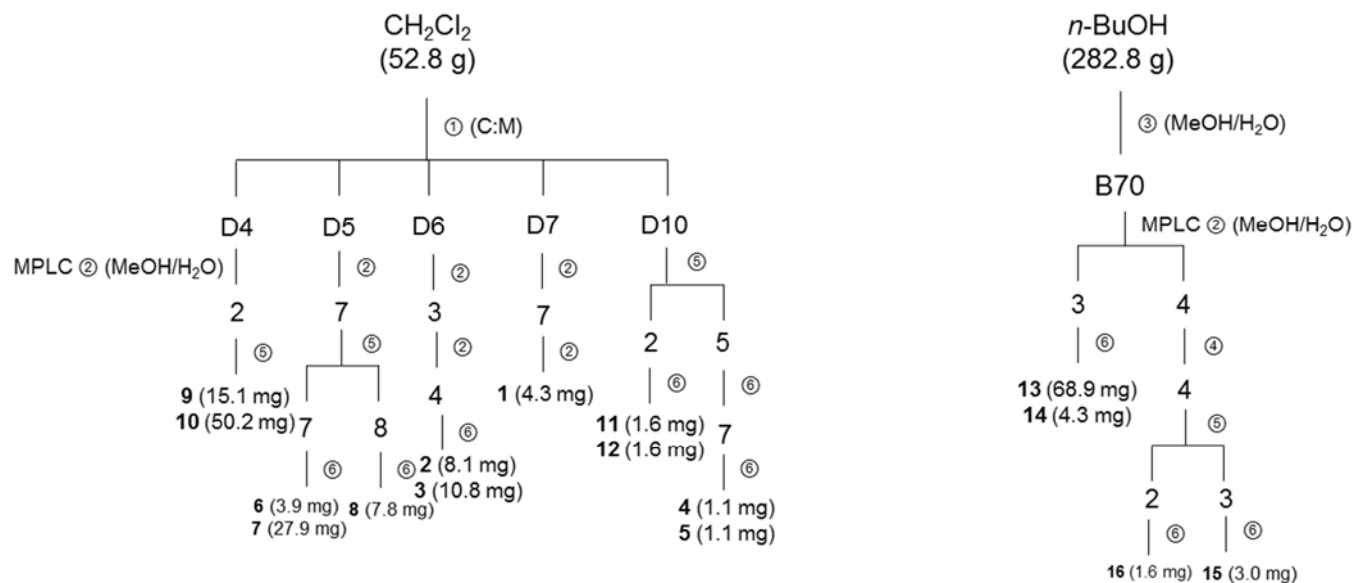
2.2.2. 의성개나리 뿌리로부터 화합물의 분리

의성개나리의 CH₂Cl₂ 분획 (52.8 g)을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 Chloroform/MeOH 혼합용매 100:1을 시작으로 1:1로 극성을 높이면서 전개하여 총 13개의 소분획 (D1-D13)을 얻을 수 있었다. 화합물 9 (15.1 mg)와 10 (50.2 mg)을 소분획 D4에서 MeOH/H₂O 혼합용액으로 MPLC를 수행하여 3개의 소분획을 얻은 뒤, 그 중에서 두번째 소분획을 preparative HPLC를 사용하여 40% acetonitrile-H₂O 조건으로 각각 분리할 수 있었다. 소분획 D5을 RP C₁₈ 컬럼 크로마토그래피를 MeOH/H₂O 혼합용액으로 10%에서 100%로 MeOH 비율을 높이면서 수행하여 총 10개의 소분획 (D51-D510)을 얻을 수 있었다. 그 중에서 7번째 소분획 D57을 preparative HPLC 를 사용하여 60% MeOH-H₂O 조건으로 8개의 소분획(D571-D578)을 얻은 뒤, D577 소분획을 semi-preparative HPLC를 활용하여 chiralpak IB column 을 사용하였다. 0.2% formic acid(v/v)를 넣은 EtOH/*n*-hexane 1:1 비율의 용매를 사용하여 화합물 6 (3.9 mg), 7 (27.9 mg)을 분리하였다. D578 소분획에서는 semi-preparative HPLC를 45% acetonitrile-H₂O 조건으로 화

합물 **8** (7.8 mg)을 분리하였다. 소분획 D6은 RP C18 MPLC를 MeOH/H₂O 혼합용액으로 10%에서 100%로 MeOH 비율을 높이면서 수행하여 총 5개의 소분획(D61-D65)을 얻었다. 그 중, D63 소분획을 RP C18 컬럼 크로마토그래피를 10%에서 70%로 MeOH 비율을 높여가는 MeOH/H₂O 용매조건으로 수행하여 D631-D636의 소분획을 얻었다. 그 중에서, D634를 semi-preparative HPLC를 40% acetonitrile-H₂O 조건으로 수행하여 화합물 **2** (8.1 mg), **3** (10.8 mg)을 각각 얻었다. 소분획 D7은 RP MPLC를 MeOH 수화물 10% 에서 100% 의 gradient 조건을 수행하여 10개의 소분획 (D71-D710)을 얻었다. D77 소분획을 semi-preparative HPLC를 35% acetonitrile 수용액 조건을 사용하여 화합물 **1** (4.3 mg)을 얻었다. 소분획 D10을 preparative HPLC를 통하여 20% 에서 70% acetonitrile-H₂O의 gradient 조건을 수행하여 9개의 소분획 (D101-D109)을 얻었다. 그 중, D102 소분획을 semi-preparative HPLC를 통해 silica column을 사용하였으며, 용매조건 CH₂Cl₂/MeOH 98:2 의 isocratic 조건으로 화합물 **11** (1.6 mg) 과 **12** (1.6 mg)을 얻었다. 또한, 소분획 D105를 semi-preparative HPLC를 CH₂Cl₂/MeOH 98:2 의 isocratic 조건으로 silica column을 통해 8개의 소분획(D10571-D10578)을 얻었으며, D1057 소분획을 33% EtOH/H₂O 조건으로 semi-preparative HPLC를 사용해 화합물 **4** (1.1 mg) 와 **5** (1.1 mg)을 얻었다.

n-BuOH 분획 (282.8 g)을 Diaion HP-20 resin을 사용하여 MeOH/H₂O 용매조건으로 0, 30, 70, 100% MeOH 비율로 단계적으로 전개하여 총 4개의 소분획 (B0, B30, B70, B100)을 얻었다. 그 중에서 B70 분획을 MeOH/H₂O 조건으로 MPLC를 활용한 RP C18 resin 을 사용하여 5개의 소분획 (B70_1-B70_5)을 얻었다. 그 중, B70_3을 20% acetonitrile 조건으로 semipreparative HPLC를 이용하여 화합물 **13** (68.9 mg)과 **14** (4.3 mg)를 얻었다. B70_4는 70% MeOH 조건으로 Sephadex LH-20 resin 을 수행하여 7개의 소분획(B70_41-B70_47)을 얻었으며, 그 중, B70_44 소분획을 20% acetonitrile 조건으로

preparative HPLC을 수행하여 4개의 소분획(B70_441-B70_444)을 또한 얻었다. B70_442를 45% MeOH 조건으로 semipreparative HPLC를 통하여 화합물 **16** (1.6 mg)을 얻었다. 또한, B70_443을 45% MeOH 조건으로 semipreparative HPLC를 사용하여 화합물 **15** (3.0 mg)을 얻었다.



- ① Silica c.c
- ② RP C18
- ③ HP-20
- ④ Sephadex LH20
- ⑤ preparative HPLC
- ⑥ semi-preparative HPLC

Scheme 4. Isolation Scheme of Compounds from *F. viridissima* roots

Dimatairesinol (**1**)

C₄₀H₄₂O₁₂

[α]_D²⁰ -9.2 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 203 (4.85), 223 (sh), 285 (3.98) nm

CD (MeOH) λ max 218 (-1.19), 233 (-5.99), 292 (-0.89)

HRESIMS m/z 715.2746 [M + H]⁺ (calcd for C₄₀H₄₃O₁₂, 715.2755)

¹H (600 MHz, CDCl₃): See the Table 12

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): See the Table 12

5',5'''-(8*R*,8'*R*,8''*R*,8'''*R*-4',4'',4'''-trihydroxy-3,4,3',3'',3'''-pentamethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide) (**2**)

C₄₁H₄₄O₁₂

[α]_D²⁰ -54.6 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 205 (4.89), 223 (sh), 285 (4.01) nm

CD (MeOH) λ max 215 (-11.0), 232 (-11.49), 283 (-1.45)

HRESIMS m/z 729.2924 [M + H]⁺ (calcd for C₄₁H₄₅O₁₂, 729.2911)

¹H (600 MHz, CDCl₃): See the Table 12

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): See the Table 12

5',5''-(8*R*,8'*R*,8''*R*,8'''*R*-4',4'',4'''-trihydroxy-3,4,3',3'',3'''-pentamethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide) (**3**)

C₄₁H₄₄O₁₂

[α]_D²⁰ -23.8 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 202 (4.83), 224 (4.51), 285 (3.90) nm

CD (MeOH) λ max 218 (-1.62), 234 (-7.17), 295 (-0.73)

HRESIMS m/z 729.2897 [M + H]⁺ (calcd for C₄₁H₄₅O₁₂, 729.2911)

¹H (600 MHz, CDCl₃): See the Table 12

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): See the Table 12

5,5''-(7*R*,8*R*,8'*R*,8''*R*,8'''*R*-4,7,4',4'',4'''-pentahydroxy-3,3',3'',3'''-tetramethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide) (4)

C₄₀H₄₂O₁₃

[α]_D²⁰ 5.3 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 202 (4.82), 222 (4.50), 284 (3.90) nm

CD (MeOH) λ max 207 (-4.60), 219 (1.40), 235 (-3.78), 293 (-0.99)

HRESIMS m/z 731.2700 [M + H]⁺ (calcd for C₄₀H₄₃O₁₃, 731.2704)

¹H (850 MHz, CDCl₃): See the Table 12

¹³C NMR (213 MHz, CDCl₃): See the Table 12

5,5'''-(7*R*,8*R*,8'*R*,8''*R*,8'''*R*-7,4,4',4'',4'''-pentahydroxy-3,3',3'',3'''-tetramethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide) (5)

C₄₀H₄₂O₁₃

[α]_D²⁰ 2.6 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 204 (4.88), 222 (4.97), 4.85 (4.05) nm

CD (MeOH) λ max 208 (-1.97), 218 (4.76), 235 (-3.75), 294 (-1.72)

HRESIMS m/z 753.2534 [M + Na]⁺ (calcd for C₄₁H₄₂O₁₃Na, 753.2523)

¹H (850 MHz, CDCl₃): See the Table 13

¹³C NMR (213 MHz, CDCl₃): See the Table 13

5',5'''-(8*R*,8'*R*,8''*R*,7'''*E*-4',4'''-dihydroxy-3,4,3',3'',4'',3'''-hexamethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide) (6)

C₄₂H₄₄O₁₂

[α]_D²⁰ -28.1 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 203 (4.88), 227 (4.60), 279 (4.19), 330 (4.10) nm

CD (MeOH) λ max 238 (-5.72), 282 (-0.80), 299 (-2.25)

HRESIMS m/z 741.2903 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{42}H_{45}O_{12}$, 741.2911)

1H (600 MHz, $CDCl_3$): See the Table 13

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): See the Table 13

Diarctigenin (7)

$C_{42}H_{46}O_{12}$

$[\alpha]_D^{20}$ -32.8 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 203 (4.87), 226 (4.62), 283 (3.98) nm

CD (MeOH) λ max 209 (-4.41), 234 (-10.70), 287 (-0.48)

HRESIMS m/z 743.3055 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{42}H_{47}O_{12}$, 743.3068)

1H (600 MHz, $CDCl_3$): See the Table 13

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): See the Table 13

Conicaol A (8)

$C_{42}H_{46}O_{12}$

$[\alpha]_D^{20}$ -25.8 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 204 (4.88), 228 (4.42), 280 (4.01) nm

CD (MeOH) λ max 208 (-6.12), 234 (-7.70), 285 (-1.03)

HRESIMS m/z 743.3066 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{42}H_{47}O_{12}$, 743.3068)

1H (600 MHz, $CDCl_3$): See the Table 13

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): See the Table 13

Matairesinol (9)

$C_{20}H_{22}O_6$

$[\alpha]_D^{20}$ -11.7 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ max (log ϵ) 205 (4.90), 230 (4.40), 282 (4.12) nm

CD (MeOH) λ max 210 (-2.13), 232 (-9.33), 289 (-0.72)

HRESIMS m/z 359.1492 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{20}H_{23}O_6$, 359.1495)

1H (600 MHz, $CDCl_3$): See the Table 14

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): See the Table 14

Arctigenin (**10**)

$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6$

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -33.0 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 205 (4.90), 231 (4.43), 280 (4.10) nm

CD (MeOH) λ_{max} 207 (-1.37), 233 (-10.55), 278 (-0.57)

HRESIMS m/z 373.1653 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_6$, 373.1651)

^1H (600 MHz, CDCl_3): See the Table 14

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): See the Table 14

7' R^* -methoxy-7-*epi*-lariciresinol (**11**)

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_7$

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 62.4 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 206 (4.89), 232 (4.47), 231 (4.14) nm

CD (MeOH) λ_{max} 210 (25.66), 236 (10.48), 284 (3.79)

HRESIMS m/z 413.1573 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{Na}$, 413.1576)

^1H (600 MHz, CDCl_3): See the Table 14

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): See the Table 14

7' S^* -methoxy-7-*epi*-lariciresinol (**12**)

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_7$

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 3.0 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 201 (4.48), 234 (3.68), 281 (3.51) nm

CD (MeOH) λ_{max} 205 (-6.95), 235 (-1.66), 283 (-0.40)

HRESIMS m/z 413.1560 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{Na}$, 413.1576)

^1H (600 MHz, CDCl_3): See the Table 14

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): See the Table 14

Matairesinoside (**13**)

$C_{26}H_{32}O_{11}$

$[\alpha]_D^{20} -77.3$ (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 205 (4.89), 229 (4.40), 280 (4.07) nm

CD (MeOH) λ_{\max} 210 (−1.40), 230 (−13.08), 277 (−1.94)

HRESIMS m/z 543.1844 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{26}H_{32}O_{11}Na$, 543.1842)

1H (300 MHz, DMSO- d_6): See the Table 15

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): See the Table 15

Arctiin (**14**)

$C_{27}H_{34}O_{11}$

$[\alpha]_D^{20} -63.1$ (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 204 (4.88), 229 (4.40), 279 (4.04) nm

CD (MeOH) λ_{\max} 205 (−0.50), 231 (−11.00), 277 (−1.47)

HRESIMS m/z 557.1990 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{27}H_{34}O_{11}Na$, 557.1999)

1H (300 MHz, DMSO- d_6): See the Table 15

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): See the Table 15

Plucheoside d3 (**15**)

$C_{27}H_{34}O_{11}$

$[\alpha]_D^{20} -38.4$ (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 201 (4.72), 220 (sh), 279 (4.31) nm

CD (MeOH) λ_{\max} 201 (14.32), 232 (4.04), 289 (−4.96)

HRESIMS m/z 557.1996 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{27}H_{34}O_{11}Na$, 557.1999)

1H (600 MHz, DMSO- d_6): See the Table 15

^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6): See the Table 15

4'-hydroxy-3,3',9-trimethoxy-9,9'-epoxylignan 4-*O*- β -D-glucoside (**16**)

C₂₇H₃₆O₁₁

$[\alpha]_D^{20}$ -55.1 (c 0.1, MeOH)

UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 200 (4.78), 220 (3.93), 280 (3.75) nm

CD (MeOH) λ_{\max} 205 (-20.57), 228 (-4.67), 280 (-1.56)

HRESIMS m/z 559.2153 $[M + Na]^+$ (calcd for C₂₇H₃₆O₁₁Na, 559.2155)

¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆): See the Table 15

¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): See the Table 15

Table 12. ¹H and ¹³C NMR data of compounds 1-4

position	1^a		2^a		3^a		4^b	
	δ_{C} , type/ δ_{H} (<i>J</i> in Hz)							
1	129.7, C		130.5, C		130.6, C		133.2, C	
2	110.5, CH	6.44 d (1.8)	112.0, CH	6.45 d (1.9)	112.0, CH	6.47 d (1.9)	107.1, CH	6.56 d (1.9)
3	147.4, C		149.1, C		149.1, C		147.6, C	
4	141.6, C		148.0, C		148.0, C		142.7, C	
5	124.0, C		111.4, CH	6.68 d (8.1)	111.4, CH	6.69 d (8.1)	123.6, C	
6	123.5, CH	6.55 d (1.8)	120.8, CH	6.52 dd (8.1, 1.9)	120.8, CH	6.52 dd (8.1, 2.1)	121.3, CH	6.68 d (1.9)
7	38.4, CH2	2.64 m 2.56 m	38.2, CH2	2.70 m 2.54 m	38.2, CH2	2.69 m 2.53 m	74.4, CH2	4.42 d (8.1)
8	41.2, CH	2.47 h (7.8, 7.8, 7.8, 7.7, 7.7)	40.9*, CH	2.57 m	40.9, CH	2.55 m	46.1, CH	2.52 p (6.9, 6.9, 6.5, 6.5)
9	71.5, CH2	4.17 m 3.89 m	71.5, CH2	4.17 m 3.88 overlapped	71.5*, CH2	4.14 m 3.86 overlapped	68.3, CH2	4.41 m 4.16 dd (9.3, 7.7)

1'	129.7, C		129.5, C		129.5, C		129.4, C	
2'	111.7, CH	6.64 d (1.8)	111.2, CH	6.66 d (1.9)	111.2, CH	6.66 d (2.0)	111.3, CH	6.51 d (1.9)
3'	146.9, C		147.6, C		147.5, C		146.7, C	
4'	144.6, C		141.7, C		141.7, C		144.4*, C	
5'	114.2, CH	6.76 d (7.9)	123.9, C		124.2, C		113.9, CH	6.72 d (8.0)
6'	122.3, CH	6.58 dd (8.0, 1.8)	124.4, CH	6.69 d (1.9)	124.2, CH	6.67 d (2.0)	122.1, CH	6.57 m
7'	34.6, CH ₂	2.96 dd (14.1, 5.2) 2.89 dd (14.1, 6.9)	34.6, CH ₂	2.94 d (5.5)*	34.6, CH ₂	2.95 m	34.8, CH ₂	2.80 dd (13.7, 4.9) 2.74 m
8'	46.7, CH	2.59 m	46.8**, CH	2.59 m	46.8**, CH	2.57 m	43.7, CH	2.71 m
9'	179.0, C		178.9, C		178.9		179.0, C	
1''			129.9, C		129.7, C		129.5, C	
2''			111.2, CH	6.39 d (1.8)	110.5, CH	6.43 d (2.0)	110.5, CH	6.46 d (1.8)
3''			146.7, C		147.5, C		147.2, C	
4''			144.5, C		141.6, C		141.5, C	
5''			114.5, CH	6.73 d (8.0)	123.8, C		123.6, C	

6''	121.5, CH	6.48 dd (8.0, 1.9)	123.6, CH	6.57 d (2.0)	123.4, CH	6.48 d (1.8)
7''	38.4, CH ₂	2.65 m 2.56 m	38.4, CH ₂	2.61 dd (13.8, 6.3) 2.52 m	38.1, CH ₂	2.65 dd (14.0, 6.4)
8''	40.9*, CH	2.57 m	41.2, CH	2.45 m	41.1, CH	2.46 h (7.9, 7.9, 7.9, 7.8, 7.8)
9''	71.5, CH ₂	4.17 m 3.88 overlapped	71.4*, CH ₂	4.14 m 3.86 overlapped	71.3, CH ₂	4.21 dd (9.0, 7.7) 3.86 m
1'''	129.5, C		129.7, C		129.7, C	
2'''	111.1, CH	6.65 s	111.7, CH	6.63 d (1.9)	111.5, CH	6.63 d (1.8)
3'''	147.5, C		146.9, C		146.7, C	
4'''	141.7, C		144.6, C		144.3*, C	
5'''	124.0, C		114.2, CH	6.76 d (8.0)	114.1, CH	6.74 d (8.0)
6'''	124.4, CH	6.65 s	122.2, CH	6.57 dd (8.1, 1.9)	122.1, CH	6.47 dd (8.0, 1.8)

7'''			34.6, CH ₂	2.92 d (5.9) [*]	34.6, CH ₂	2.95 m 2.87 dd (14.2, 7.0)	34.5, CH ₂	2.99 dd (14.2, 5.3) 2.87 dd (14.2, 7.1)
8'''			46.8, CH ₂ ^{**}	2.59 m	46.6, CH ₂ ^{**}	2.57 m	46.4, CH	2.59 m
9'''			178.9, C		178.9, C		178.8, C	
OCH ₃ -3	56.2, CH ₃	3.77 s	55.9, CH ₃		55.9, CH ₃		56.0, CH ₃	3.82 s
OCH ₃ -4			56.0, CH ₃		56.0, CH ₃			
OCH ₃ -3'	56.0, CH ₃	3.86 s	56.3, CH ₃		56.0, CH ₃		55.8, CH ₃	3.71 s
OCH ₃ -3''			55.9, CH ₃		56.2, CH ₃		56.1, CH ₃	3.86 s
OCH ₃ -3'''			56.2, CH ₃		56.3, CH ₃		55.9, CH ₃	3.75 s

Recorded at ^a600/150, ^b850/213 MHz, CDCl₃ ^{*}, ^{**} Exchangable

Table 13. ^1H and ^{13}C NMR data of compounds 5-8

position	5^a		6^b		7^b		8^b	
	δ_{C} , type/ δ_{H} (J in Hz)							
1	133.5, C		130.4, C		130.6, C		130.4, C	
2	107.5, CH	6.57 d (1.8)	112.0, CH	6.46 d (2.1)	112.0, CH	6.45 d (1.9)	112.1*, CH	6.45 d (2.0)
3	147.8, C		149.1*, C		149.1, C		149.2, C	
4	142.8, C		148.0, C		147.9, C		148.0, C	
5	123.4, C		111.2**, CH	6.71 d (8.0)	111.4, CH	6.68 d (8.2)	111.5**, CH	6.72 d (8.0)
6	121.3, CH	6.69 d (1.9)	120.7, CH	6.53 dd (8.1, 2.0)	120.8, CH	6.52 dd (8.3, 1.9)	120.7, CH	6.52 dd (8.0, 2.1)
7	74.5, CH ₂	4.41 d (7.3)	38.1, CH ₂	2.68 m 2.54 m	38.2, CH ₂	2.66 m 2.51 m	38.3, CH ₂	2.60 m 2.54 m
8	46.2, CH	2.51 m	40.8, C	2.55 m	40.9, CH	2.54 m	41.2, C	2.48 m
9	68.4, CH ₂	4.38 dd (9.4, 6.2) 4.13 dd (9.3, 7.8)	71.3, CH ₂	4.13 m 3.86 overlapped	71.5, CH ₂	4.12 m 3.85 m	71.4, CH ₂	4.14 dd (9.1, 7.3) 3.86 dd (9.2, 7.6)
1'	129.5, C		129.3, C		129.5, C		134.2, C	

2'	111.5, CH	6.51 d (1.9)	111.3, CH	6.71 d (2.2)	111.1, CH	6.66 d (1.8)	113.6, CH	6.74 d (2.1)
3'	146.8, C		147.3, C		147.5, C		150.6, C	
4'	144.6, C		141.6, C		141.7, C		145.0, C	
5'	114.1, CH	6.72 d (8.0)	122.6, C		124.0, C		119.1, CH	6.79 d (7.9)
6'	122.2, CH	6.47 dd (8.0, 1.8)	124.2, CH	6.74 d (1.9)	124.4, CH	6.70 d (1.9)	121.8, CH	6.59 dd (8.2, 2.0)
7'	34.9, CH ₂	2.76 d (6.4)	34.3, CH ₂	2.96 dd (14.1, 5.6) 2.91 dd (14.1, 4.5)	34.6, CH ₂	2.94 (3.9)	34.7, CH ₂	2.96 dd (14.1, 5.4) 2.91 dd (14.1, 6.7)
8'	43.8, CH	2.72 m	46.7, CH	2.56 m	46.8, CH	2.55 m	46.7, CH	2.58 m
9'	179.2, C		178.6, C		178.9, C		178.7, C	
1''	130.2, C		130.5, C				130.4, C	
2''	111.3, CH	6.42 d (1.8)	112.1, CH	6.59 d (2.0)			112.0*, CH	6.47 d (2.0)
3''	146.7, C		149.0*, C				149.2, C	
4''	144.2, C		148.1, C				148.0, C	
5''	114.6, CH	6.69 d (8.1)	111.3**, CH	6.69 d (8.0)			111.5**, CH	6.70 d (8.0)
6''	123.4, CH	6.48 d (1.8)	120.8, CH	6.66 dd			120.7, CH	6.48 dd

				(8.1, 2.0)		(7.8, 2.0)
7"	38.5, CH ₂	2.60 d (7.4)	37.1, CH ₂	3.15 dd (14.4, 4.1)	38.3, CH ₂	2.47 m 2.44 m
8"	40.9, CH	2.48 m	39.7, CH	3.81 overlapped	41.1, CH	2.43 m
9"	71.4, CH ₂	4.21 dd (9.0, 7.7) 3.86 m	69.5, CH ₂	4.22 m	71.3, CH ₂	4.06 dd (9.1, 7.3) 3.82 overlapped
1'''	129.5, C		126.1, C		129.0, C	
2'''	111.2, CH	6.68 d (1.8)	112.3, CH	7.04 d (2.0)	108.0, CH	6.43 d (1.8)
3'''	147.3, C		147.6, C		148.2, C	
4'''	141.5, C		144.9, C		136.0, C	
5'''	124.3, C		124.4, C		144.1, C	
6'''	124.4, CH	6.36 d (1.6)	125.7, CH	7.38 d (2.1)	113.0, CH	6.35 d (1.8)
7'''	34.4, CH ₂	2.97 dd (14.2, 6.2) 2.87 dd	137.2, CH	7.55 d (1.8)	34.8, CH ₂	2.83 dd (14.1, 5.2) 2.78 dd

(14.2, 5.4)				(14.2, 6.6)				
8'''	47.1, CH	2.58 m	126.0, C			46.6, CH	2.48 m	
9'''	179.0, C		172.7, C			178.6, C		
OCH ₃ -3	56.2*, CH ₃	3.84 s	56.2, CH ₃	3.69 s	55.9, CH ₃	3.68 s	56.0, CH ₃	3.79 s
OCH ₃ -4			55.9, CH ₃	3.83 s	56.0, CH ₃	3.84 s	56.0, CH ₃	3.82 s
OCH ₃ -3'	55.9**, CH ₃	3.70 s	55.8, CH ₃	3.86 s	56.2, CH ₃	3.97 s	56.0, CH ₃	3.77 s
OCH ₃ -3''	56.0**, CH ₃	3.68 s	56.1, CH ₃	3.69 s			56.0, CH ₃	3.78 s
OCH ₃ -4''			55.9, CH ₃	3.80 s			56.0, CH ₃	3.82 s
OCH ₃ -3'''	56.3*, CH ₃	3.86 s	55.7, CH ₃	3.95 s			56.4, CH ₃	3.83 s
Recorded at ^a 850/213, ^b 600/150 MHz, CDCl ₃								

Table 14. ¹H and ¹³C NMR data of compounds 9-12

position	9		10		11		12	
	δ_{C} , type/ δ_{H} (J in Hz)							
1	129.6, C		129.6, C		133.6, C		132.7, C	
2	110.0, CH	6.59 br s	111.3, CH	6.61 d (1.9)	108.8, CH	6.78 m	108.8, CH	6.86 d (1.9)
3	146.7, C		147.8, C		146.7, C		146.8, C	
4	144.5, C		146.8, C		145.3, C		145.6, C	
5	114.2, CH	6.79 d (8.3)	111.8, CH	6.72 d (8.1)	114.2, CH	6.84 d (8.5)	114.3, CH	6.88 d (8.0)
6	121.4, CH	6.58 m	120.6, CH	6.58 dd (7.9, 2.0)	119.5, CH	6.76 m	119.7, CH	6.82 dd (8.3, 1.9)
7	38.5, CH ₂	2.50 m	38.3, CH ₂	2.52 m	84.0, CH	4.46 d (7.9)	84.7, CH	4.34 d (9.2)
8	41.1, CH	2.50 m	41.1, CH	2.52 m	51.9, CH	1.93, dq (7.9, 7.9, 6.6, 5.0)	56.1, CH	2.26 dtd (11.4, 9.2, 8.4, 4.6)
9	71.5, CH ₂	4.16 dd (9.2, 7.0) 3.86 dd (9.1, 7.0)	71.4, CH ₂	4.11 dd (9.2, 6.9) 3.85 dd (8.9, 6.9)	63.0, CH ₂	3.29 m	63.8, CH ₂	3.71 m 3.61 m

1'	129.9, C		130.5, C		131.1, C		131.5, C	
2'	111.6, CH	6.39 d (2.0)	111.6, CH	6.43 d (2.0)	109.5, CH	6.78 m	108.8, CH	6.81 d (2.0)
3'	146.8, C		149, C		146.9, C		147.2, C	
4'	144.6, C		144.6, C		145.6, C		146, C	
5'	114.5, CH	6.77 d (8.0)	114.2, CH	6.79 d (7.8)	114.3, CH	6.86 d (8.0)	114.4, CH	6.88 d (7.9)
6'	122.2, CH	6.48 dd (8.0, 2.0)	122.1, CH	6.51 dd (8.1, 2.1)	121.3, CH	6.72 dd (8.0, 1.9)	121.2, CH	6.80 dd (7.9, 1.9)
7'	34.7, CH ₂	2.93 dd (14.1, 5.3) 2.85 dd (14.1, 6.7)	34.6, CH ₂	2.90 m 2.88 m	85.4, CH	4.02 d (8.2)	86.6, CH	3.92 d (10.2)
8'	46.7, CH	2.50 m	46.7, CH	2.52 m	49.9, CH	2.52 tdd (7.9, 7.9, 6.6, 5.0)	52.9, CH	2.57 tt (9.9, 9.9, 7.6, 7.6)
9'	178.9, C		178.9, C		70.9, CH ₂	4.13 dd (9.2, 5.0) 4.01 (9.2, 7.7)	70.3, CH ₂	3.63 m 3.55 m

OCH ₃ -3	55.9, CH ₃	3.79 s	55.9, CH ₃	3.78 s	56.1, CH ₃	3.85 s	56.2, CH ₃	3.91 s
OCH ₃ -4			55.9, CH ₃	3.78 s				
OCH ₃ -3'	56.0, CH ₃	3.79 s	56.0, CH ₃	3.82 s	56.1, CH ₃	3.85 s	56.1, CH ₃	3.90 s
OCH ₃ -7'					56.7, CH ₃	3.18 s	56.2, CH ₃	3.16 s

Recorded at 600/150 MHz, CDCl₃

Table 15. ¹H and ¹³C NMR data of compounds 13-16

position	13^a		14^a		15^b		16^b	
	δ_{C} , type/ δ_{H} (<i>J</i> in Hz)							
1	129.5, C		131.2, C		132.1, C		133.7, C	
2	112.7, CH	6.62 d (1.8)	112.4, CH	6.66 br s	110.3, CH	6.94 d (1.9)	113.1, CH	6.73 d (2.0)
3	147.5, C		148.7, C		146.4, C		148.6, C	
4	144.9, C		147.3, C		147.5, C		144.8, C	
5	115.4, CH	6.66 d (8.1)	111.9, CH	6.83 d (8.1)	115.3, CH	6.74 d (8.2)	115.0, CH	6.96 d (8.3)
6	120.7, CH	6.49 dd (7.9, 1.8)	120.4, CH	6.61 dd (8.1, 1.8)	118.3, CH	6.78 dd (8.2, 1.9)	120.6, CH	6.62 m
7	36.8, CH ₂	*	36.8, CH ₂	*	87.1, CH	5.53 d (6.3)	37.7, CH ₂	2.54 m 2.40 m
8	40.8, CH	*	40.7, CH	*	50.6, CH	3.59 m	52.3, CH	2.01 m
9	70.6, CH ₂	4.08 dd (8.6, 7.0) 3.86 dd (8.8, 8.2)	70.6, CH	4.09 dd (8.8, 7.1) 3.88 dd (8.6, 8.2)	70.4, CH ₂	4.05 dd (9.7, 6.2) 3.66 m	109.3, CH	4.66 d (1.9)
1'	131.8, C		131.8, C		130.1, C		131.2, C	

2'	113.9, CH	6.78 d (1.8)	113.8, CH	6.79 d (1.8)	110.6, CH	6.99 d (1.5)	112.5, CH	6.63 d (2.0)
3'	148.6, C		148.7, C		143.7, C		147.4, C	
4'	145.3, C		145.3, C		147.3, C		144.6, C	
5'	115.1, CH	6.99 d (8.4)	115.1, CH	6.99 d (8.4)	128.8, C		115.3, CH	6.65 d (2.0)
6'	121.3, CH	6.67 dd (8.1, 1.8)	121.3, CH	6.67 dd (8.8, 1.8)	115.7, CH	7.05 d (1.4)	120.6, CH	6.49 dd (8.0, 1.9)
7'	33.4, CH ₂	2.78 m	33.5, CH ₂	2.80 m	131.9, CH	6.52 d (15.9)	37.9, CH	2.47 d (7.4)
8'	45.5, CH	*	45.5, CH	*	123.7, CH	6.19 dt (16.0, 6.0)	46.0, CH	2.07 dt (14.8, 7.6, 7.6)
9'	178.4, C		178.4, C		72.4, CH ₂	4.00 dd (6.2, 1.4)	71.2, CH ₂	3.83 t (7.9, 7.9) 3.46 m
1''	100.2, CH	4.84 d (7.3)	100.2, CH	4.84 d (7.3)	103.0, CH	4.25 d (7.7)	100.1, CH	4.84 d (7.3)
2''	73.2, CH	3.16-3.38 m	73.2, CH	3.10-3.50 m	73.6, CH	3.01 m	73.2, CH	3.22 m
3''	76.8, CH	3.16-3.38 m	76.8, CH	3.10-3.50 m	76.8, CH	3.15 m	76.9, CH	3.25 m
4''	69.6, CH	3.16-3.38 m	69.6, CH	3.10-3.50 m	70.0, CH	3.05 m	69.6, CH	3.15 m
5''	76.9, CH	3.16-3.38 m	77.0, CH	3.10-3.50 m	77.0, CH	3.10 m	77.0, CH	3.25 m

6''	60.6, CH ₂	3.65 m 3.43 m	60.6, CH ₂	3.67 m 3.40 m	61.1, CH	3.66 m 3.43 dd (11.8, 5.8)	60.6, CH ₂	3.64 m 3.44 m
OCH ₃ -3	55.6, CH ₃	3.72 s	55.6, CH ₃	3.70 s	55.6, CH ₃	3.74 s	55.6, CH ₃	3.72 s
OCH ₃ -3'	55.5, CH ₃	3.72 s	55.5, CH ₃	3.70 s	55.7, CH ₃	3.81 s	55.5, CH ₃	3.71 s
OCH ₃ -4			55.4, CH ₃	3.72 s				
OCH ₃					57.2, CH ₃	3.26 s	54.3, CH ₃	3.13 s

Recorded at ^a300/75, ^b600/150 MHz, DMSO-*d*₆ *Obscured by solvent

2.2.3. CVB3 와 HRV1B 바이러스에 대한 항바이러스활성 평가

2.2.3.1. 세포 배양

HeLa 와 Vero 세포를 5-10% FBS (GE Healthcare Life Sciences) 와 1% penicillin-streptomycin 을 포함하는 DMEM 배지를 사용하여 배양하였다. Coxsackievirus B3 (CVB3, strain Nancy)는 Vero 세포에, human rhinovirus 1B (HRV1B, HRV serotype 1B)는 HeLa 세포에 감염을 시켰다. Antibiotic-antimycotic solution, trypsin-EDTA, FBS, MEM 은 Gibco BRL (Grand Island, NY, USA) 사 제품을 사용하였다. 조직 배양 plate 는 Falcon (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) 사의 제품을 사용하였고, Sulforhodamine B (SRB) 는 Sigma-Aldrich 에서 구입하였다.

2.2.3.2. 항바이러스 활성평가와 세포독성 실험

HeLA 또는 Vero 세포는 96-well plate 에 2×10^4 cells/well 로 분주하였으며, 24시간뒤에 배지를 제거하고 PBS를 사용하여 씻고, 감염 후 2일 이내에 적절한 세포 변성 효과를 생성하기 위하여 TCID₅₀ (50% 조직 배양 감염 용량)을 함유하는 희석 된 바이러스 현탁액 0.09 mL 와 화합물 0.01 mL 를 첨가 하였다. 37℃, 5% CO₂ 조건에서 이틀동안 배양한 후, 세포 생존율을 측정하였다. 각 화합물의 항바이러스활성은 0.4-50 μ M 의 농도 범위에서 측정하였다. 4개의 well 은 바이러스 대조군 (바이러스에 감염된 비처리 세포군)으로 사용하였으며, 또 다른 4개의 well 은 세포 대조군 (비감염, 비처리 세포군)으로 사용하였다. PBS 로 한번 세척한 후에, 차가운 (-20℃) 70% (v/v) acetone, 100 μ L를 각 well 에 처리하고 30 분동안 -20℃ 의 조건에 두었으며, 그 뒤에 acetone 을 제거하고, 96-well plate 를 60℃ 에서 30분 동안 건조하였다. 그런 다음, 0.4% (w/v) SRB 를 함유하는 1% acetic acid (v/v) 100 μ L를 각 well 에 처리하고, 실온에서 30분동안 배양하였다. 결합하

지 않는 SRB 는 1% acetic acid (v/v) 를 5회동안 반복하여 씻어내어 제거하고, plate 는 오븐에 건조시켰다. 하루 뒤에, 고정된 SRB를 100 μ L 의 비완충 Tris-base solution (10 mM) 으로 녹이고 30분동안 실온에 배양하였다. 각 well 의 흡광도는 540 nm 에서 측정하였으며, 기준 흡광도도는 620 nm 로 설정하였다. (VersaMax microplate reader, Molecular Devices, PaloAlto, CA, USA) CVB3 또는 HRV1B 감염 세포에서의 각 화합물들의 항바이러스활성은 비처리 대조군에 대한 백분율로 계산하였다.

2.2.3.3. 통계 처리

다양한 군들을 비교하기 위하여, 일원배치분산분석 (one-way데이터는 ANOVA) 을 사용한 후 Tukey post hoc 검정을 수행하였으며, GraphPad Prism 버전 5 소프트웨어 (Graphpad, San Diego, CA, USA) 를 이용하였다.

제 3장 연구의 결과와 고찰

3.1. 의성개나리에서 분리한 화합물의 구조 설명

3.1.1 화합물 1

화합물 1은 무색의 검(gum) 형태를 나타내는 물질로, HRESIMS를 통하여 positive mode 에서 m/z 715.2746 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{40}H_{43}O_{12}$, 715.2755) 의 값을 얻어 그 분자식을 $C_{40}H_{42}O_{12}$ 로 알 수 있었다. 1H NMR에서 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.76 (d, $J = 7.9$ Hz), 6.64 (d, $J = 1.8$ Hz), 6.58 (dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz)] 와 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.55 (d, $J = 1.8$ Hz), 6.44 (d, $J = 1.8$ Hz)], oxymethylene [δ_H 4.17 (m), 3.89 (m)], 두 개의 methine [δ_H 2.59 (m), 2.47 (h, $J = 7.8, 7.8, 7.8, 7.7, 7.7$ Hz)], 두 개의 methylene [δ_H 2.96 (dd, $J = 14.1, 5.2$ Hz), 2.89 (dd, $J = 14.1, 6.9$ Hz)], [δ_H 2.64 (m), 2.56 (m)], 두 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었고, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 179.0)와 butyrolactone ring [δ_C 179.0, 71.5, 46.7, 41.2]의 존재를 알 수 있었으며, 이러한 1H 와 ^{13}C NMR 값으로 dibenzyl butyrolactone lignan 골격임을 알 수 있었다. 기존에 보고된 dibenzylbutyrolactone lignan 중에서 두 개의 methoxy를 갖는 matairesinol (9)과 비교하였을 때, ^{13}C NMR 상에서 5번 탄소 값이 downfield로 이동 되어있는 것을 확인하였고, 4, 6 번의 탄소 값도 이동 되어있는 것을 알 수 있었다. MS 값과 더불어 탄소 값들의 이동을 통해 화합물 1은 두 개의 동일한 lignan (matairesinol)의 5번 위치에 탄소-탄소 결합으로 연결된 lignan dimer임을 예상 할 수 있었다. Dilignan에서 탄소-탄소 결합의 위치는 이동된 ^{13}C NMR 값을 통하여 확인 할 수 있을 뿐만 아니라, 동시에 두 개의 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring의 확인과 연결을 통하여 탄소-탄소 결합의 위치를 확인이 가능하였다.

HMBC spectrum을 통하여 (δ_{H} 6.76, 6.64) 와 (δ_{C} 34.6) 그리고 (δ_{H} 6.55, 6.44) 와 (δ_{H} 38.4)의 상호작용을 확인하여 각각의 aromatic ring 과 methylene을 연결할 수 있었으며, COSY spectrum을 통하여 methylene (C-7)-methine (C-8)-methine (C-8')와 oxygenated methylene (9)-methylene (7')을 연결하여, dilignan의 골격을 완성 할 수 있었다. (Figure 99) 마지막으로, 각각의 methoxy의 위치는 HMBC 와 NOESY spectrum 을 통하여 확인할 수 있었다. (Figure 100)

화합물 1에서 C-8 과 C-8' 에 위치한 methine 수소들의 상대적인 위치를 결정하기 위하여 C-9에 위치한 oxygenated methylene 수소 두 개의 ^1H NMR 값을 비교한 결과, δ_{H} 4.17, 3.89 임을 확인하였으며, 문헌치와 비교하여 두 methine 수소들은 *trans* configuration 으로 확인 하였다. UV 및 ECD spectrum 측정을 통하여 234, 276 nm 주변에서 negative Cotton effect 가 나타나는 것을 확인하여 8*R*, 8'*R* 로 화합물 1의 절대구조를 결정하였다. (Figure 101) 이상의 모든 결과를 종합하여 화합물 1을 bis-5,5-(8*R*,8'*R*-4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxy-lignan-9,9'-olide) 로 결정하였으며, 이를 dimatairesinol로 명명하였다.

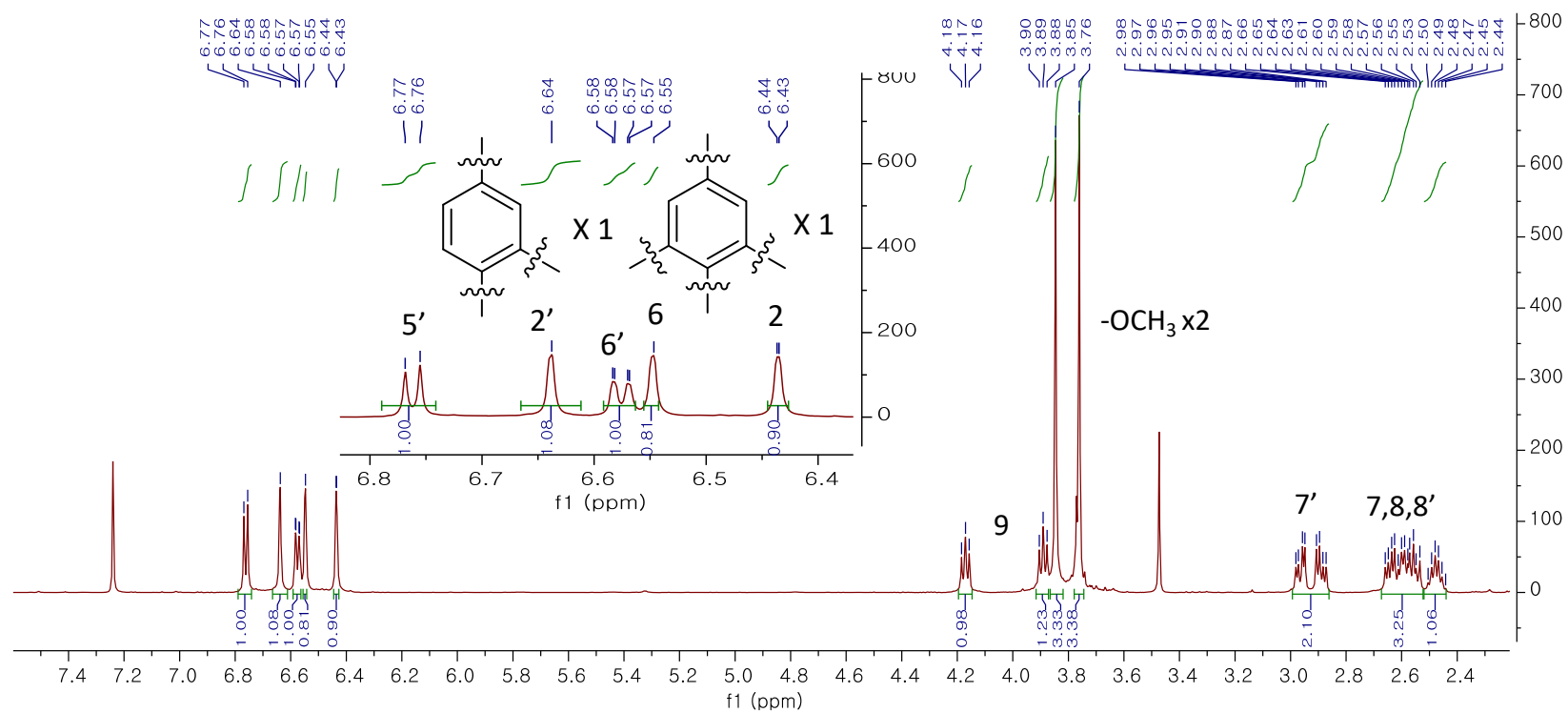


Figure 97. ^1H NMR spectrum of compound 1

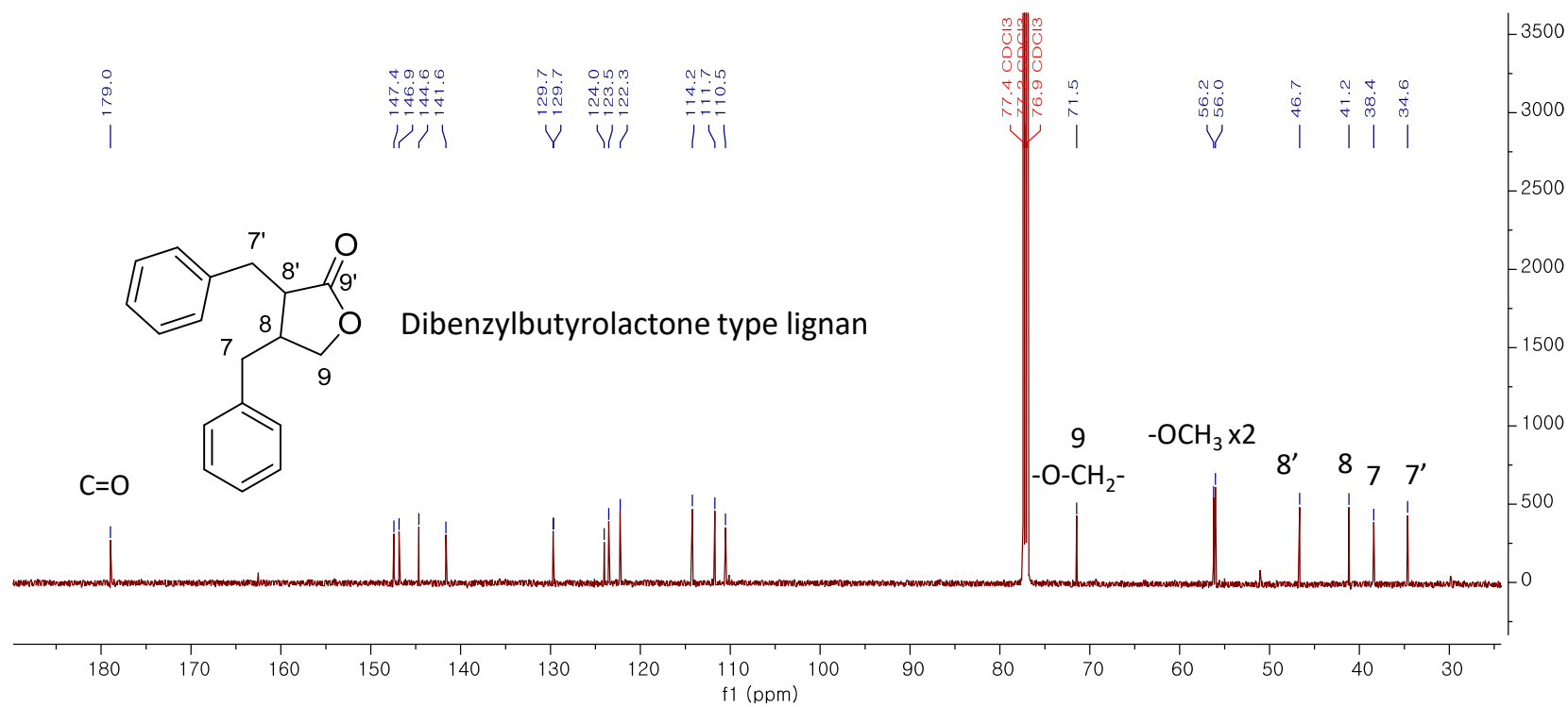


Figure 98. ¹³C NMR spectrum of compound 1

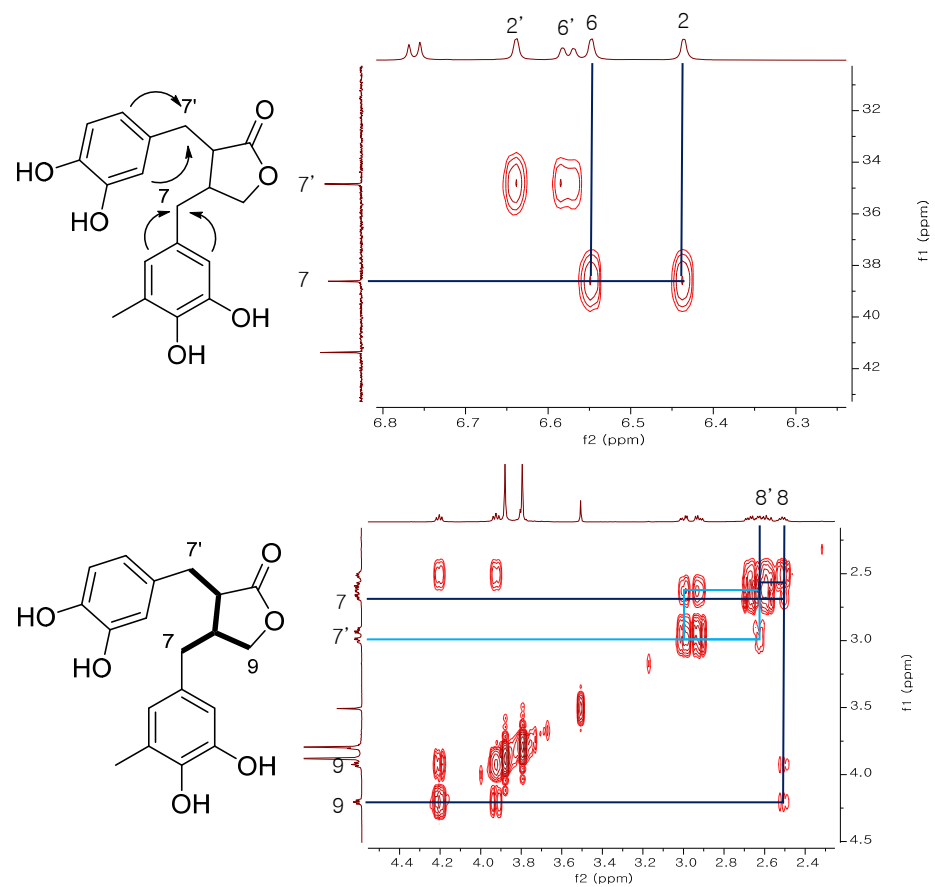


Figure 99. HMBC and COSY spectrum of compound 1

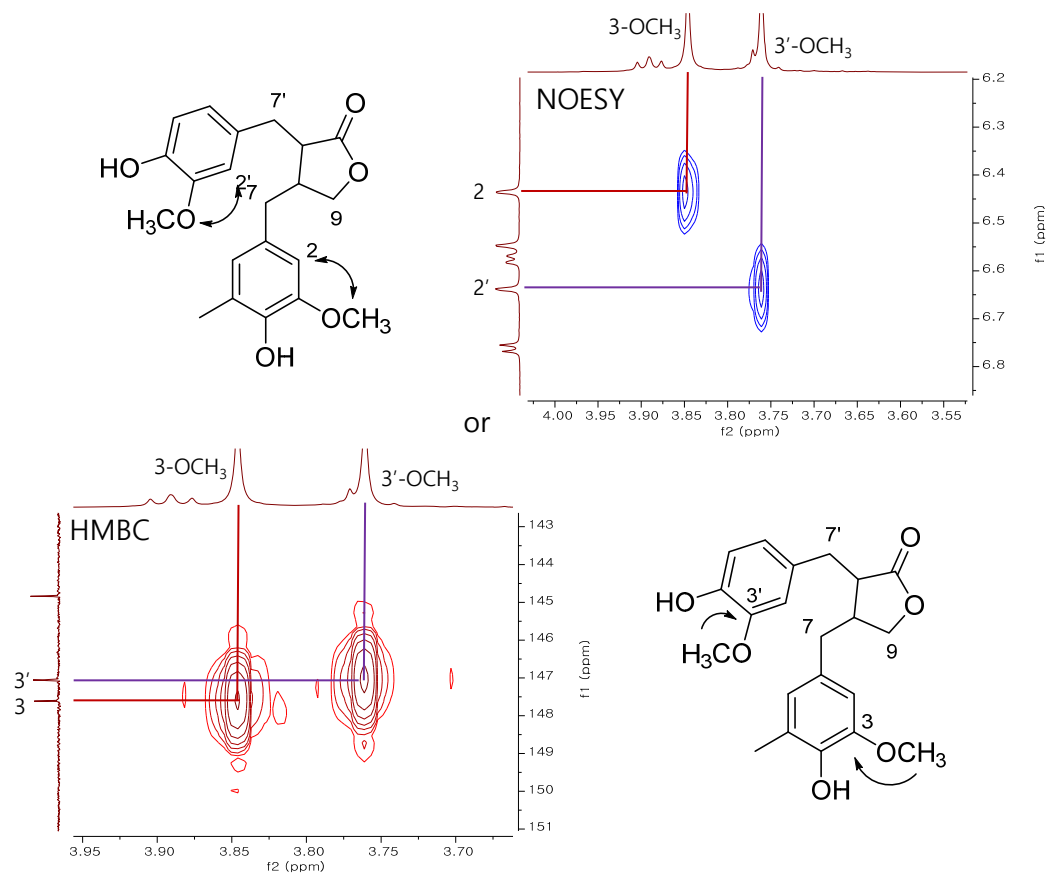


Figure 100. Determination of position of methoxy group of compound 1 (NOESY, HMBC)

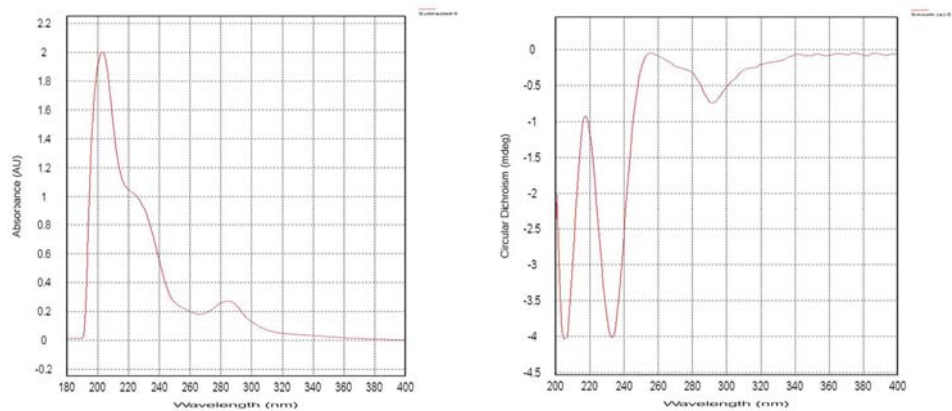


Figure 101. UV (left) and ECD (right) spectrum of compound 1

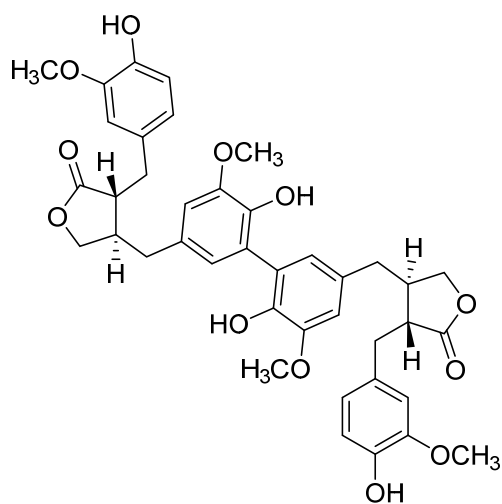


Figure 102. Chemical structure of compound 1

3.1.2 화합물 2

무색의 검(gum) 형태를 보이는 화합물 2는 HRESIMS를 통하여 positive mode 에서 m/z 729.2924 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{41}H_{45}O_{12}$, 729.2911) 의 값을 얻어 그 분자식을 $C_{41}H_{44}O_{12}$ 로 알 수 있었다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.68 (d, $J = 8.1$ Hz), 6.52 (dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz), 6.45 (d, $J = 1.9$ Hz)], [δ_H 6.73 (d, $J = 8.0$ Hz), 6.48 (dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz), 6.39 (d, $J = 1.9$ Hz)]과 두 개의 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.69 (d, $J = 1.9$ Hz), 6.66 (d, $J = 1.9$ Hz)], [δ_H 6.65 (2H, s)]을 확인할 수 있었다. 또한, oxymethylene [δ_H 4.17 (m), 3.88 (overlapped)] $\times 2$, 네 개의 methine [δ_H 2.59, (m)] $\times 2$, [δ_H 2.57, (m)] $\times 2$, 네 개의 methylene [δ_H 2.94 (d, $J = 5.5$ Hz)], [δ_H 2.92 (d, $J = 5.9$ Hz)], [δ_H 2.70 (m), 2.54 (m)], [δ_H 2.65 (m), 2.56 (m)], 다섯 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 178.9)와 두 개의 butyrolactone ring [δ_C 178.9, 71.5, 46.8, 40.9] $\times 2$ 의 존재를 알 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR 값을 토대로 화합물 1과 동일한 dibenzyl butyrolactone lignan 골격임을 알 수 있었으며, HSQC를 통하여 1D NMR 값들을 짝 지은 후, 각각 matairesinol (9)과 arctigenin (10)과 유사함을 확인 할 수 있었다. (Table 12)

HMBC spectrum을 통하여 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring 수소 (δ_H 6.69, 6.66) 와 (δ_C 34.6) 그리고 (δ_H 6.65) 와 (δ_C 34.6)를 통하여 aromatic ring 과 7번 methylene의 연결을 확인하였고, 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring 수소 (δ_H 6.52, 6.45) 와 (δ_C 38.2) 그리고 (δ_H 6.48, 6.39) 와 (δ_C 38.4)의 상호작용을 확인하여 나머지 aromatic ring 과 7'번 methylene의 연결을 확인하고, 탄소-탄소 결합의 위치가 각 부분 lignan의 5'번 위치임을 예상할 수 있었으며, 이동된 ^{13}C NMR을 통하여 다시 한번 확인 할 수 있었다. (Figure 106) 각각의 methoxy 기의 위치는 NOESY spectrum 을 통하여 확인할 수 있었다. (Figure 107)

화합물 1과 마찬가지로 화합물 2의 상대 및 절대구조를 C-9 의 ^1H NMR 값과 UV 및 ECD spectrum의 232, 283 nm 에서 negative Cotton effect 가 나타나는 것을 확인하여 $8R,8'R,8''R,8'''R$ 로 규명하였다. (Figure 108) 모든 결과를 종합하여 화합물 2를 5',5''-($8R,8'R,8''R,8'''R$ -4',4'',4'''-trihydroxy-3,4,3',3'',3'''-pentamethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide)로 결정하였다.

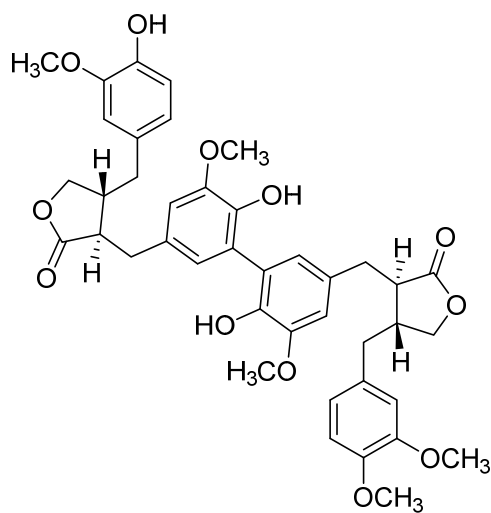


Figure 103. Chemical structure of compound 2

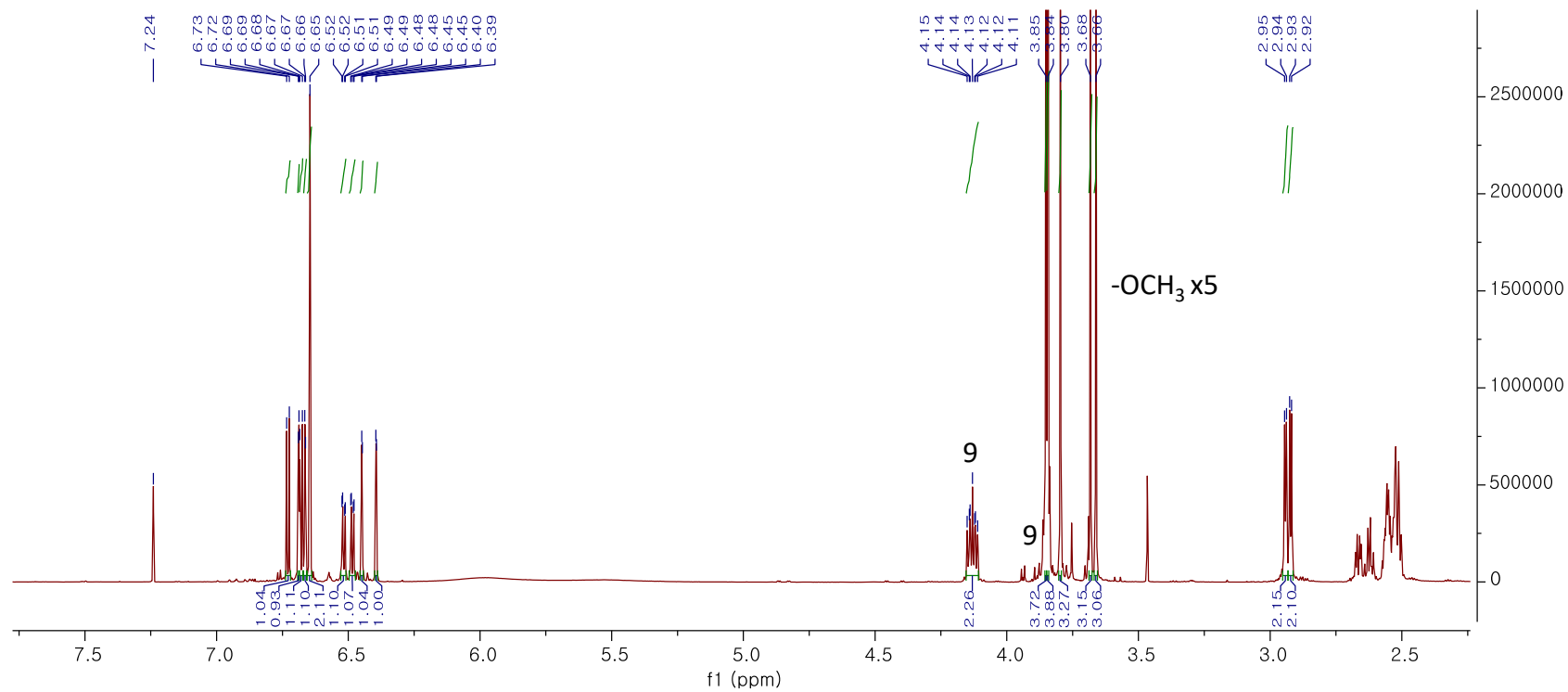


Figure 104. ^1H NMR spectrum of compound 2

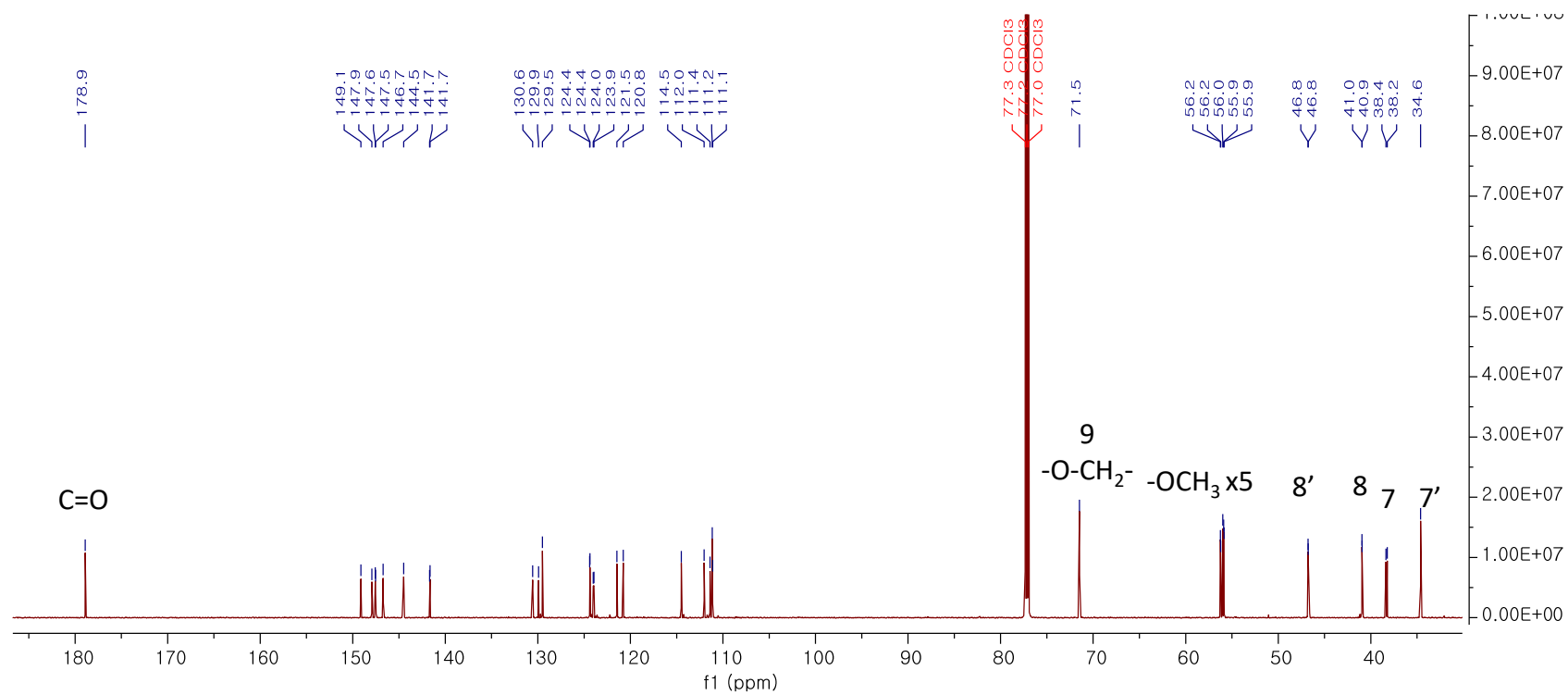


Figure 105. ¹³C NMR spectrum of compound **2**

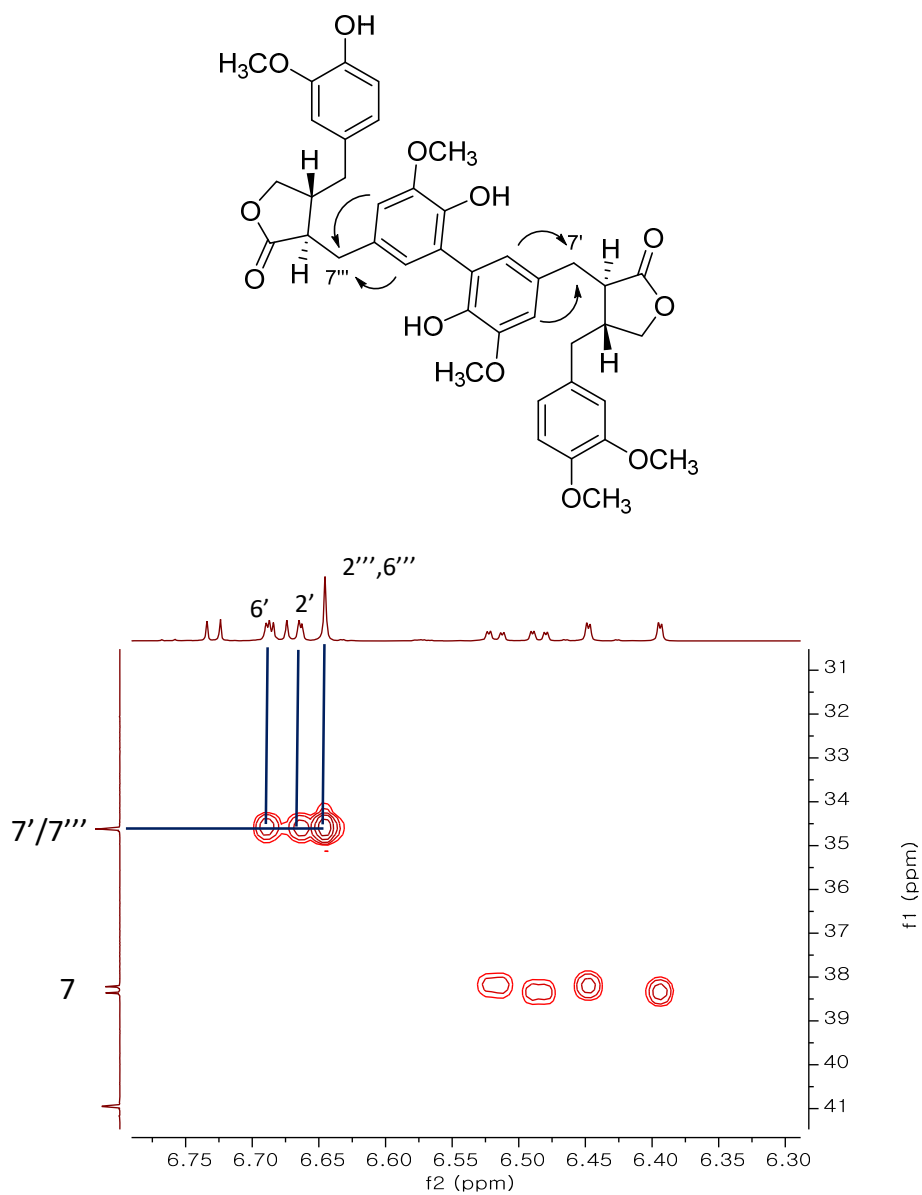


Figure 106. HMBC spectrum of compound 2

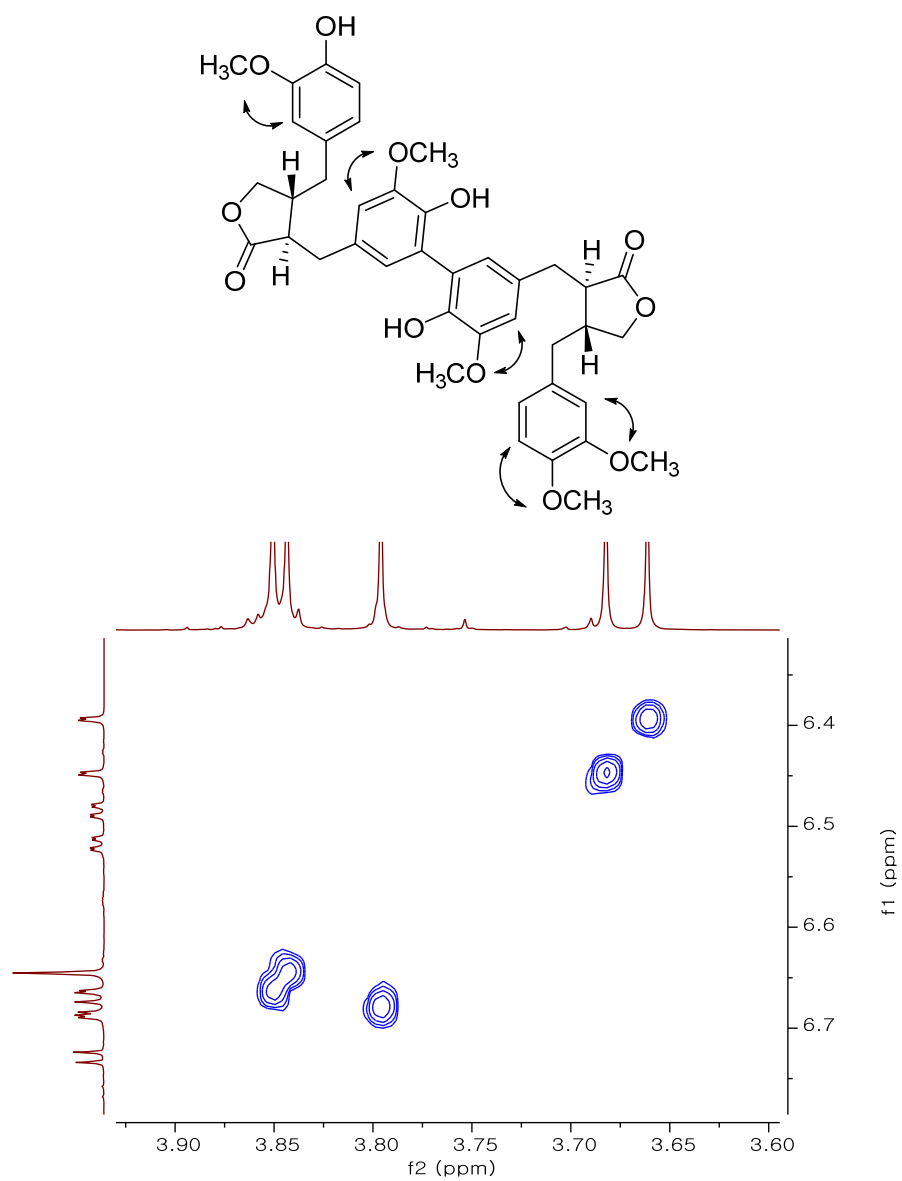


Figure 107. NOESY spectrum of compound 2

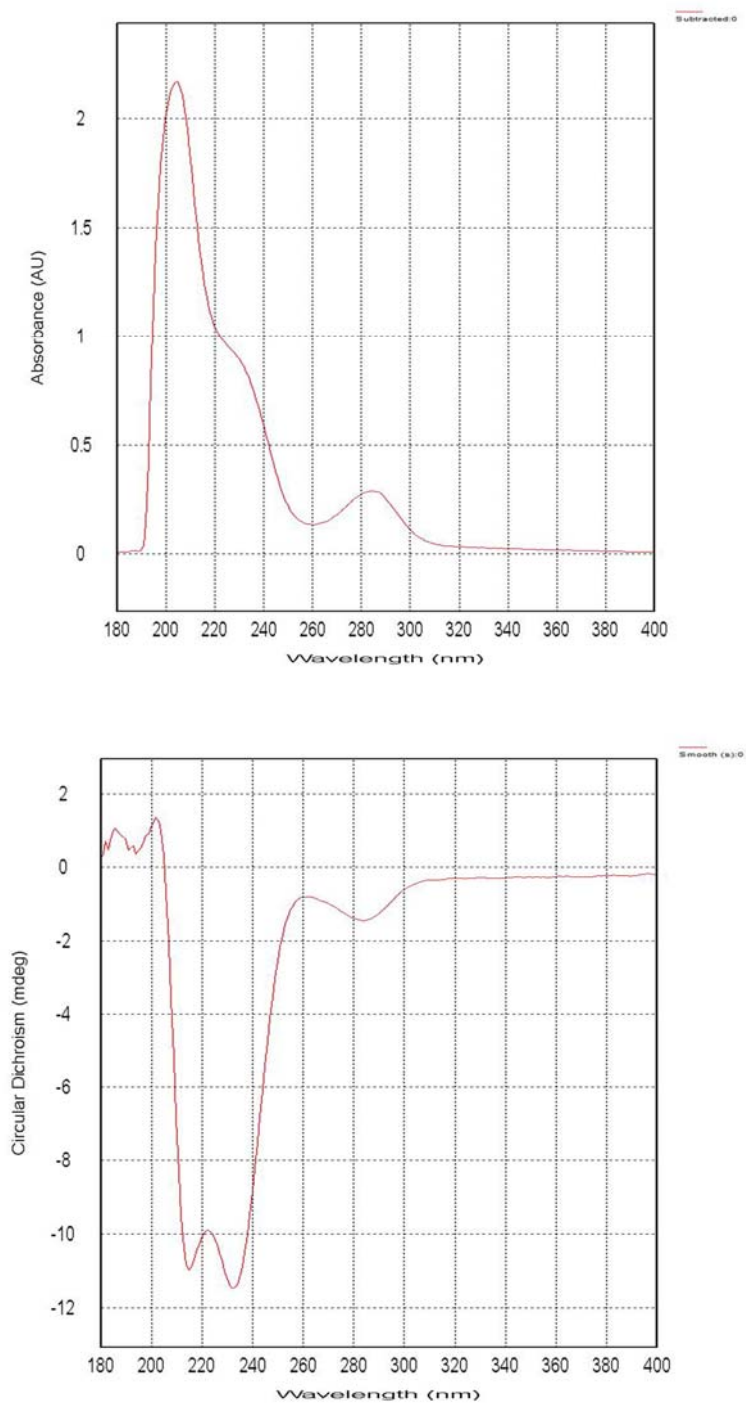


Figure 108. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 2

3.1.3 화합물 3

무색의 검(gum) 형태를 보이는 화합물 3은 HRESIMS를 통하여 positive mode 에서 m/z 729.2897 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{41}H_{45}O_{12}$, 729.2911) 의 값을 얻어 그 분자식을 $C_{41}H_{44}O_{12}$ 로 알 수 있었다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.69 (d, $J = 8.1$ Hz), 6.52 (dd, $J = 8.1, 2.1$ Hz), 6.47 (d, $J = 1.9$ Hz)], [δ_H 6.76 (d, $J = 8.0$ Hz), 6.57 (dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz), 6.63 (d, $J = 1.9$ Hz)]과 두 개의 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.67 (d, $J = 2.0$ Hz), 6.66 (d, $J = 2.0$ Hz)], [δ_H 6.57 (d, $J = 2.0$ Hz), 6.43 (d, $J = 2.0$)]을 확인할 수 있었다. 또한, 두 개의 oxymethylene [δ_H 4.14 (m), 3.86 (overlapped)] $\times 2$, 네 개의 methine [δ_H 2.57, (m)] $\times 2$, [δ_H 2.55, (m)] $\times 2$, 네 개의 methylene [δ_H 2.95 (m)], [δ_H 2.95 (m), 2.87 (dd, $J = 14.2, 7.0$ Hz)], [δ_H 2.69 (m), 2.53 (m)], [δ_H 2.61 (dd, $J = 13.8, 6.3$ Hz), 2.52 (m)], 다섯 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 178.9)와 두 개의 butyrolactone ring [δ_C 178.9, 71.5, 46.8, 40.9], [δ_C 178.9, 71.4, 46.6, 41.2]의 존재를 알 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR 값을 참고하여 HSQC로 짝을 지었을 때, dibenzylbutyrolactone lignan 골격임을 알 수 있었으며, 이 값들은 화합물 2와 같은 matairesinol (9)과 arctigenin (10)를 부분구조로 갖는 dilignan 이며, 2 와는 구조이성질체인 것을 예상 할 수 있었다. 화합물 2와는 다른 연결고리를 확인하기 위하여 ^{13}C NMR 와 HMBC spectrum 을 보았을 때, 이동된 탄소 값들과 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring 수소 (δ_H 6.67, 6.66) 과 (δ_C 34.6) 그리고 (δ_H 6.57, 6.43)과 (δ_C 38.4)의 각각의 methylene 을 통하여 탄소-탄소 결합의 위치가 matairesinol의 5번 탄소와 arctigenin의 5' 번 탄소임을 확인할 수 있었다. (Figure 112) 또한, 각각의 methoxy 기의 위치는 NOESY spectrum 을 통하여 확인할 수 있었다. (Figure 113)

화합물 3의 상대 및 절대구조는 C-9 의 1H NMR 값과 ECD

spectrum의 234, 295 nm 에서 negative Cotton effect 가 나타나는 것을 확인하여 $8R,8'R,8''R,8'''R$ 로 규명하였다. (Figure 114) 이상의 결과로 화합물 3을 5',5''-($8R,8'R,8''R,8'''R$ -4',4'',4'''-trihydroxy-3,4,3',3'',3'''-pentamethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide)로 결정하였다.

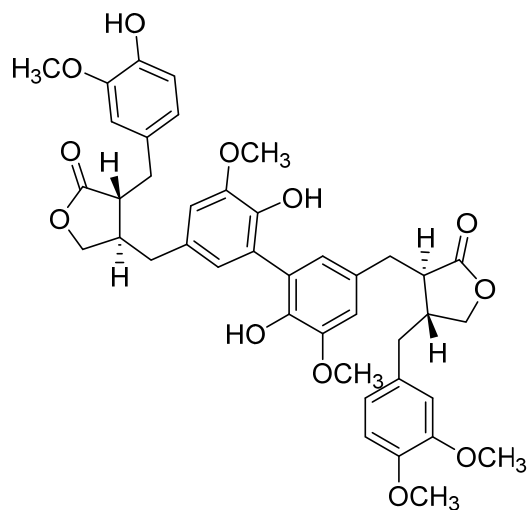


Figure 109. Chemical structure of compound 3

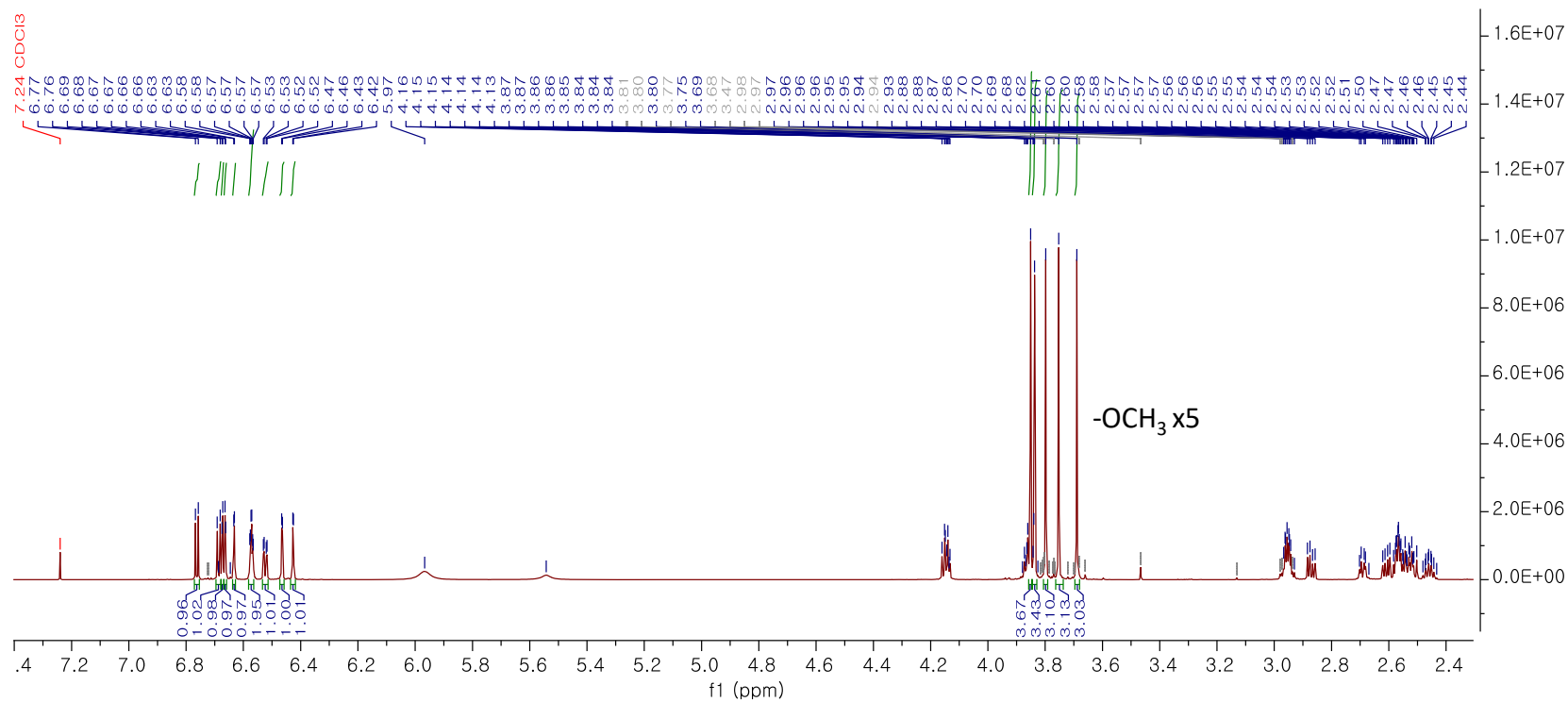


Figure 110. ^1H NMR spectrum of compound **3**

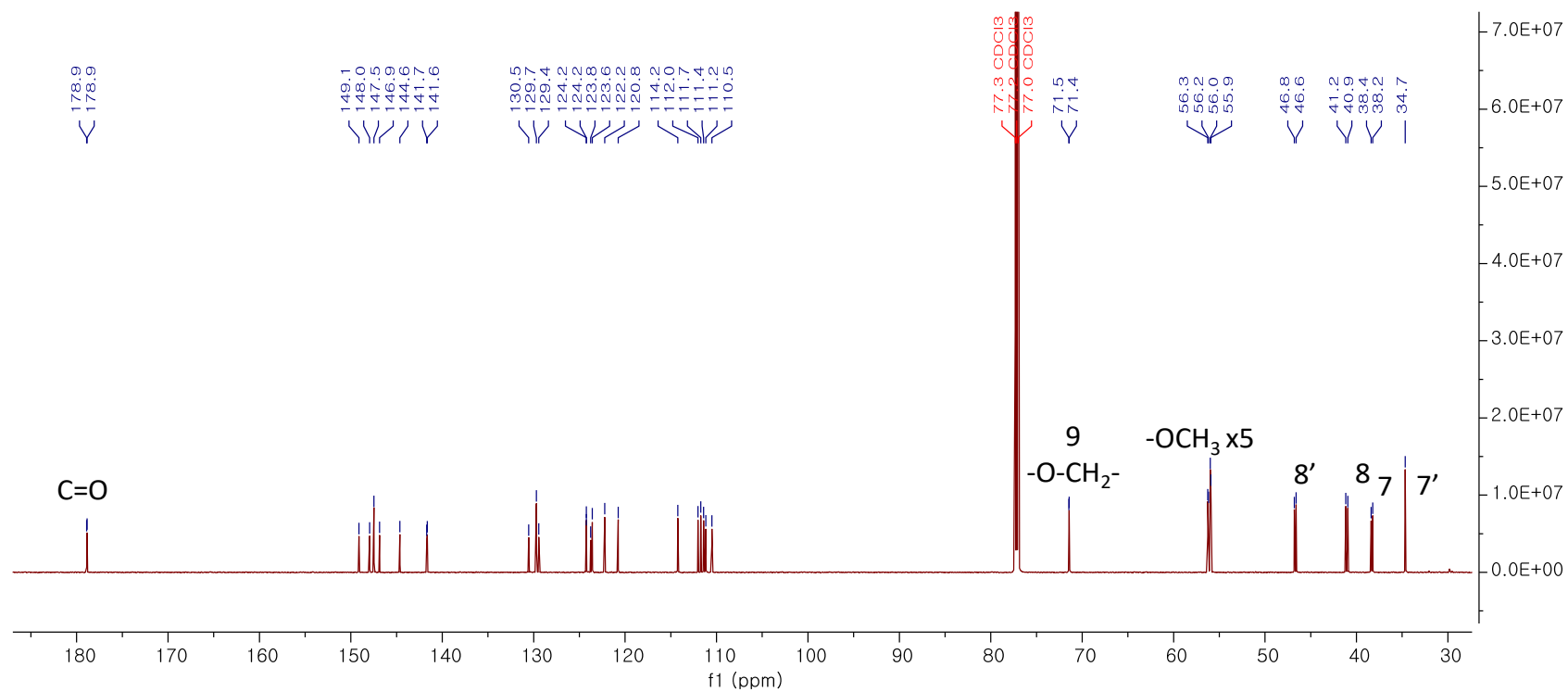


Figure 111. ¹³C NMR spectrum of compound **3**

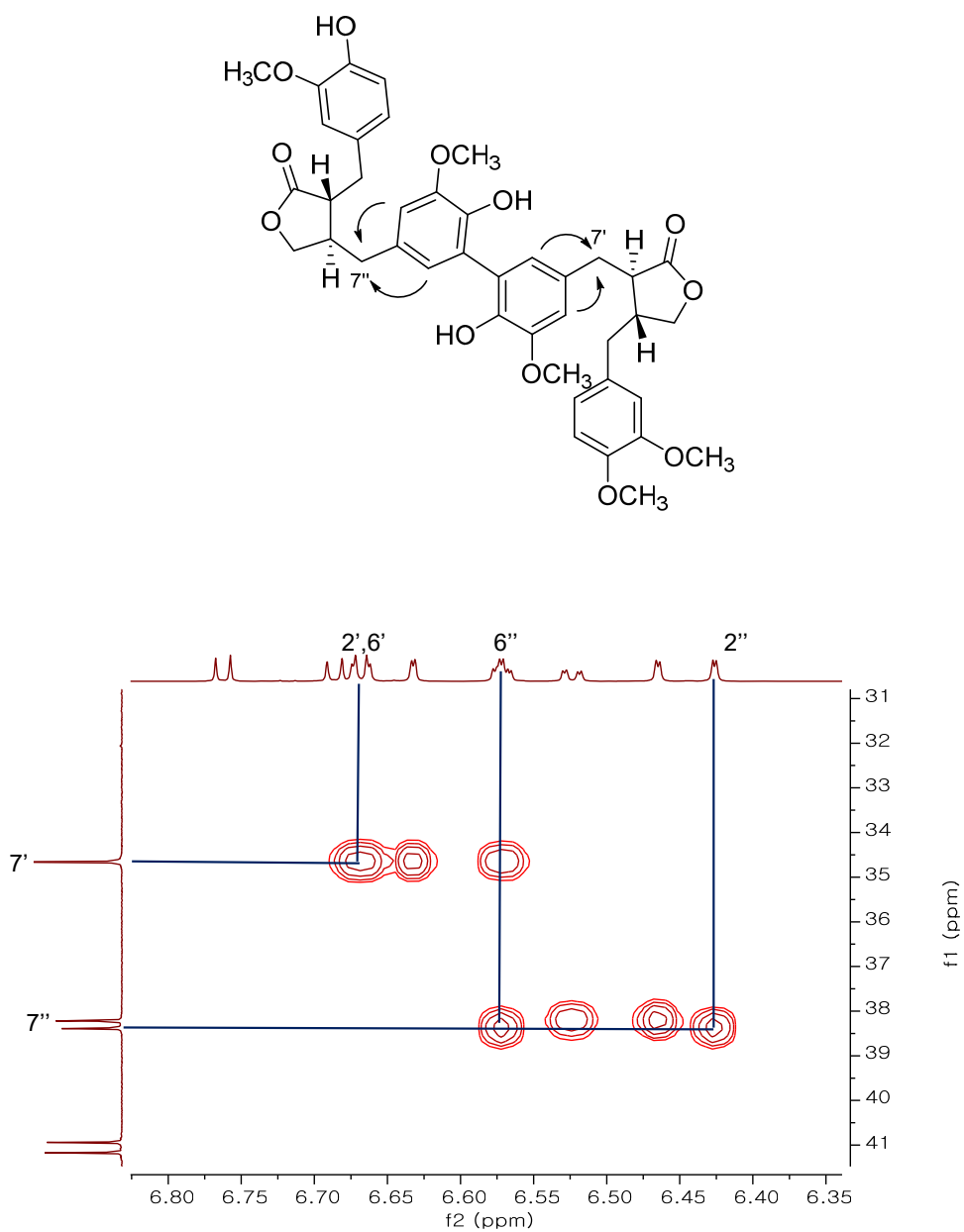


Figure 112. HMBC spectrum of compound 3

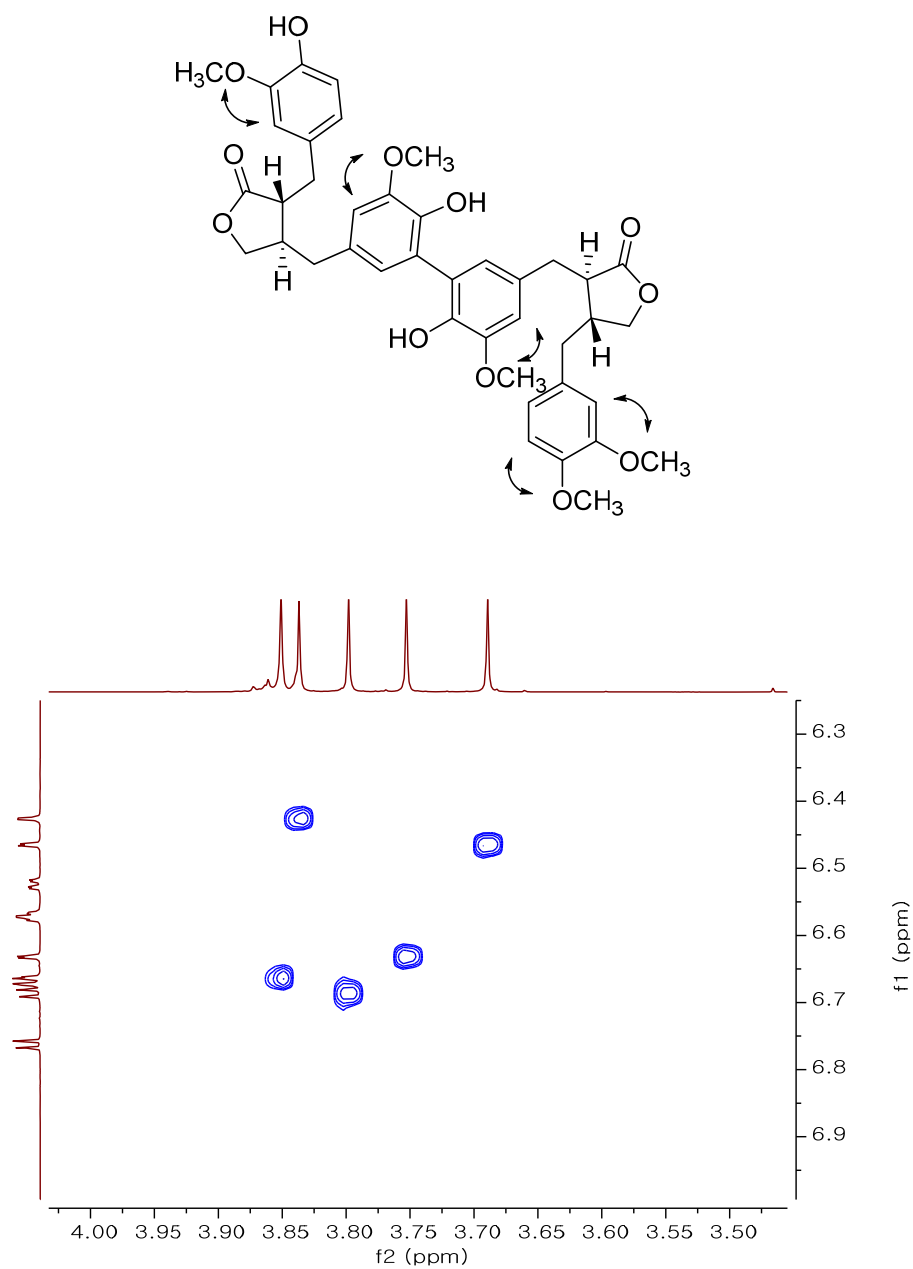


Figure 113. NOESY spectrum of compound 3

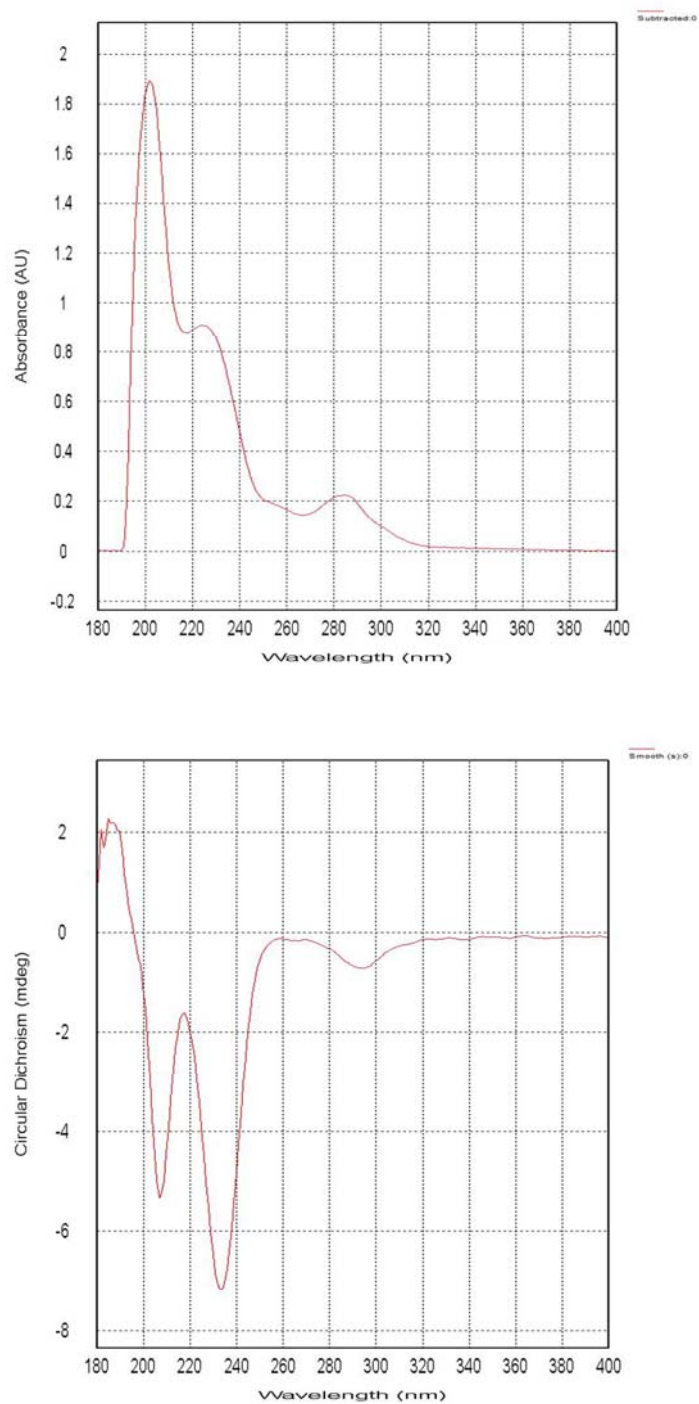


Figure 114. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 3

3.1.4 화합물 4

무색의 검(gum) 형태를 보이는 화합물 4는 HRESIMS를 통하여 positive mode 에서 m/z 731.2700 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{40}H_{43}O_{13}$, 731.2704) 의 값을 얻어 그 분자식을 $C_{40}H_{42}O_{13}$ 로 알 수 있었다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz), 6.57 (m), 6.51 (d, $J = 1.8$ Hz)], [δ_H 6.74 (d, $J = 8.0$ Hz), 6.63 (d, $J = 1.8$ Hz), 6.47 (dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz)]과 두 개의 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.68 (d, $J = 1.9$ Hz), 6.56 (d, $J = 1.9$ Hz)], [δ_H 6.48 (d, $J = 1.8$ Hz), 6.46 (d, $J = 1.8$)]을 확인할 수 있었다. 또한, 두 개의 oxymethylene [δ_H 4.41 (m), 4.16 (dd, $J = 9.3, 7.7$ Hz)], [δ_H 4.19 (dd, $J = 9.0, 7.6$ Hz), 3.90 (dd, $J = 8.9, 7.9$ Hz)], 네 개의 methine [δ_H 2.71, (m)], [δ_H 2.59, (m)], [δ_H 2.52, (p, $J = 6.9, 6.9, 6.5, 6.5$ Hz)] [δ_H 2.46, (h, $J = 7.9, 7.9, 7.9, 7.8, 7.8$ Hz)], 세 개의 methylene [δ_H 2.80 (dd, $J = 13.7, 4.9$ Hz), 2.74 (m)], [δ_H 2.65 (dd, J 14.0, 6.4 Hz), 2.57 (dd, $J = 14.0, 8.1$ Hz)], [δ_H 2.99 (dd, $J = 14.2, 5.3$ Hz), 2.87 (dd, $J = 14.2, 7.1$ Hz)]과 하나의 oxymethine [δ_H 4.42 (d, $J = 8.1$ Hz)], 네 개의 methoxy를 확인 할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 179.0, 178.8)와 두 개의 butyrolactone ring [δ_C 179.0, 68.3, 46.1, 43.7], [δ_C 178.8, 71.3, 46.4, 41.1]의 존재를 알 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR 값을 토대로 dibenzylbutyrolactone lignan 골격임을 알 수 있었으며, 화합물 1-3과는 다르게 oxymethylene이 하나 더 존재하며, 1D NMR 값들을 비교하였을 때, 4개의 methylene (7, 7', 7'', 7''')중 하나가 oxymethylene로 바뀌었을 것이라 유추할 수 있었다. HSQC를 통하여 수소와 탄소 값들을 짝지은 결과를 바탕으로 화합물 4는 7*R*-hydroxymatairesinol과 matairesinol (9)의 중합체인 것을 알 수 있었다. 두 lignan 부분구조들 사이의 탄소-탄소 연결고리를 찾기 위하여 ^{13}C NMR 와 HMBC spectrum 을 보았을 때, 이동된 탄소 값들과 1,3,4,5-사중치환된

aromatic ring 수소 (δ_H 6.68, 6.56) 와 (δ_C 74.4) 그리고 (δ_H 6.48, 6.46) 과 (δ_C 38.1)를 통하여 aromatic ring 과 7번 methylene의 연결을 확인하였고, 이를 통해 탄소-탄소 결합의 위치가 각 lignan 부분구조의 5번 탄소임을 알 수 있었다. 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring 수소 (δ_H 6.72, 6.51) 과 (δ_C 34.8) 그리고 (δ_H 6.74, 6.63)과 (δ_C 34.5)를 통하여 나머지 aromatic ring 과 7'번 methylene의 연결을 확인하였으며, 각각의 methoxy의 위치는 NOESY spectrum 을 통하여 확인할 수 있었다. (Figure 118)

화합물 4의 상대 및 절대구조는 C-9 의 1H NMR 값과 ECD spectrum 의 235, 293 nm 에서 negative Cotton effect 가 나타나는 것을 확인하여 8*R*,8'*R*,8''*R*,8'''*R* 로 규명하였다. (Figure 119) 모든 결과를 종합하여 화합물 4를 5,5''-(7*R*,8*R*,8'*R*,8''*R*,8'''*R*-4,7,4',4'',4'''-pentahydroxy-3,3',3'',3'''-tetramethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide)로 결정하였다.

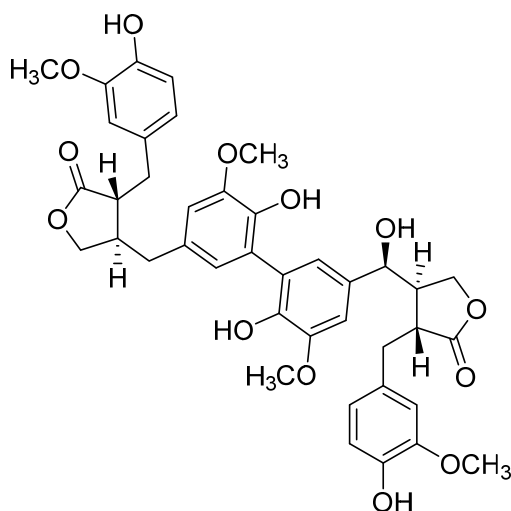


Figure 115. Chemical structure of compound 4

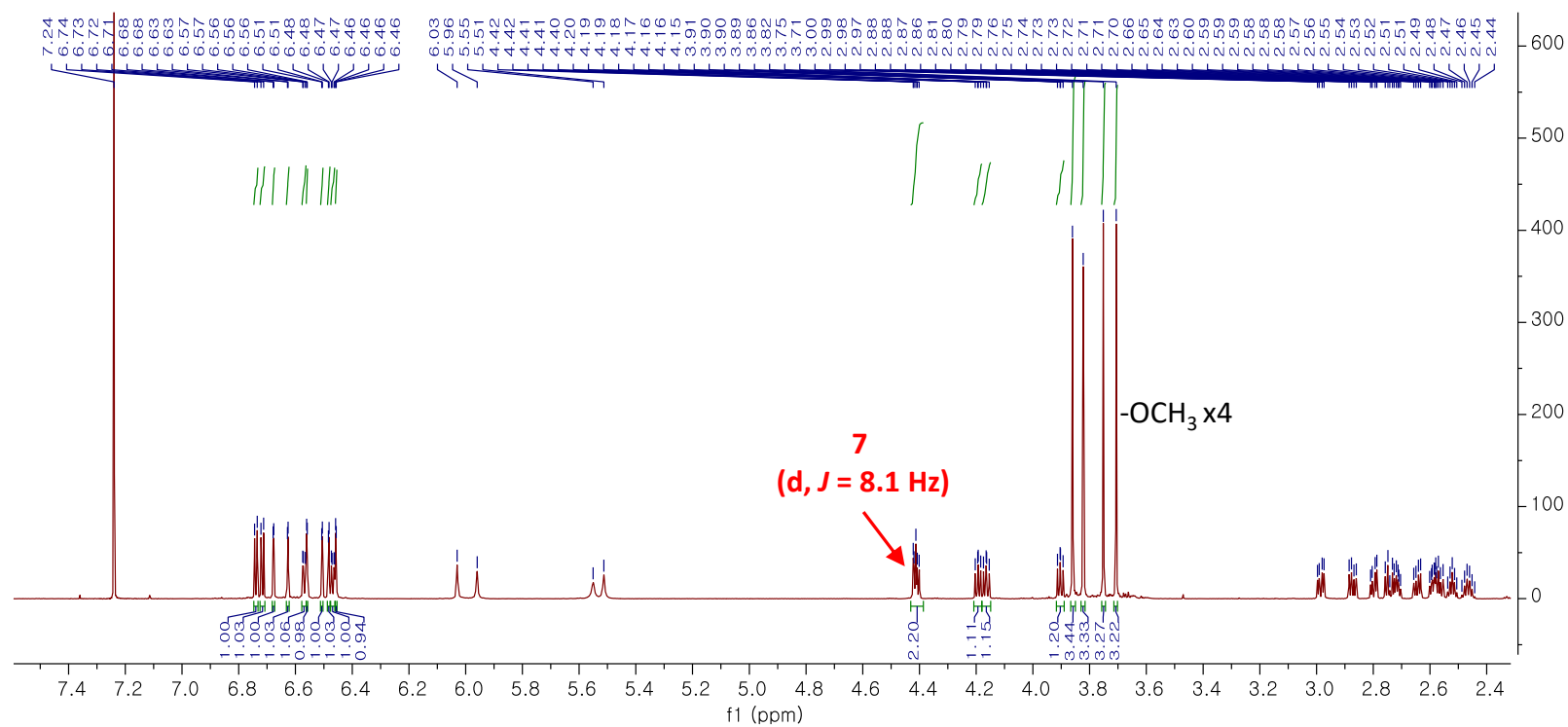


Figure 116. ^1H NMR spectrum of Compound 4

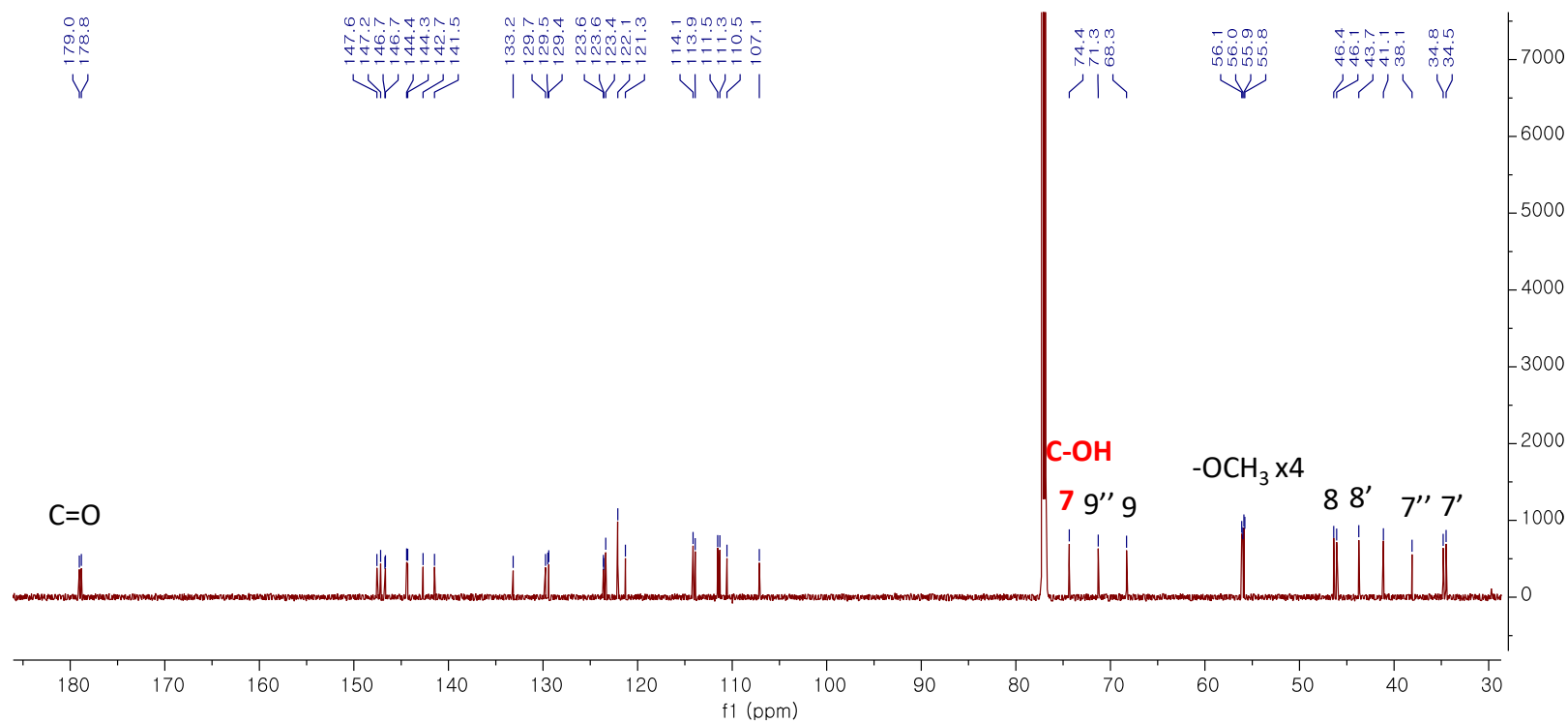


Figure 117. ¹³C NMR spectrum of Compound 4

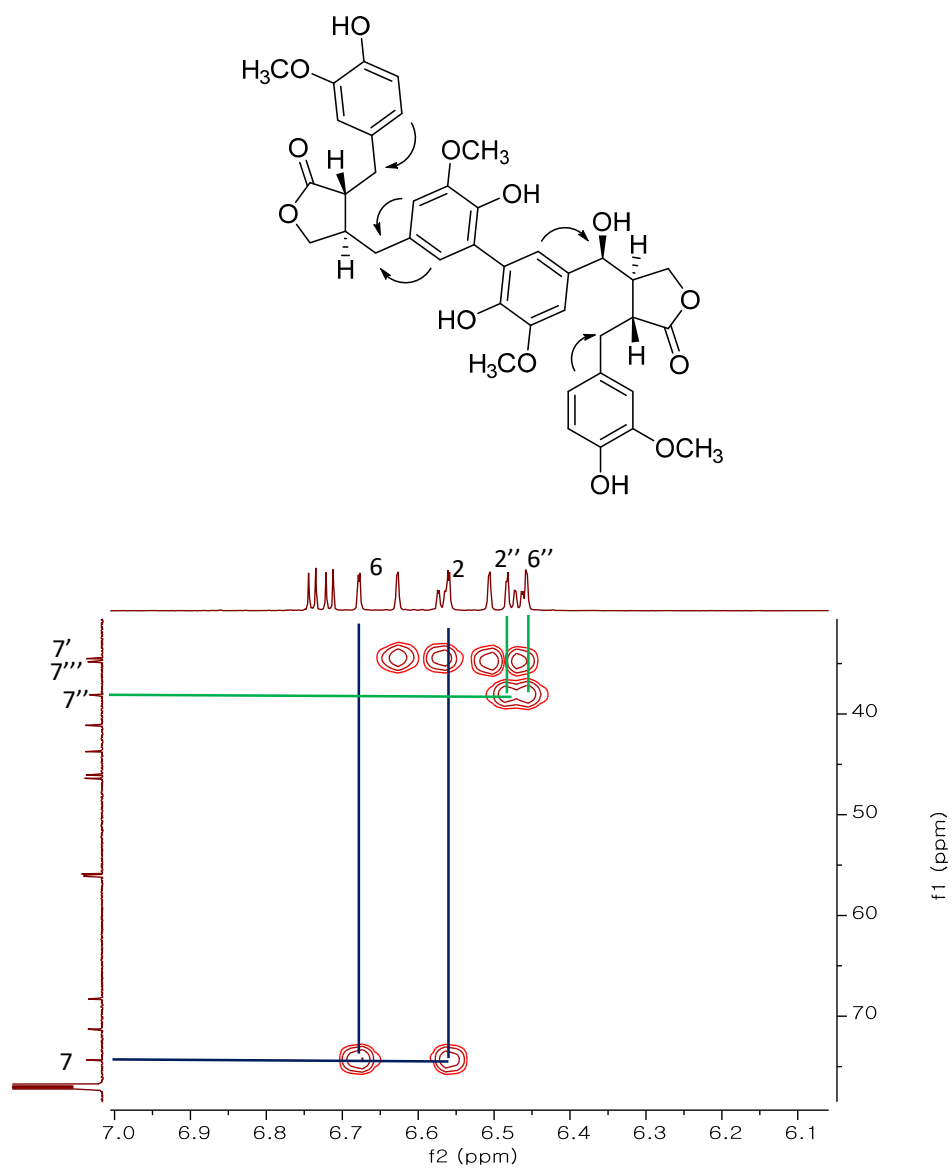


Figure 118. HMBC spectrum of compound 4

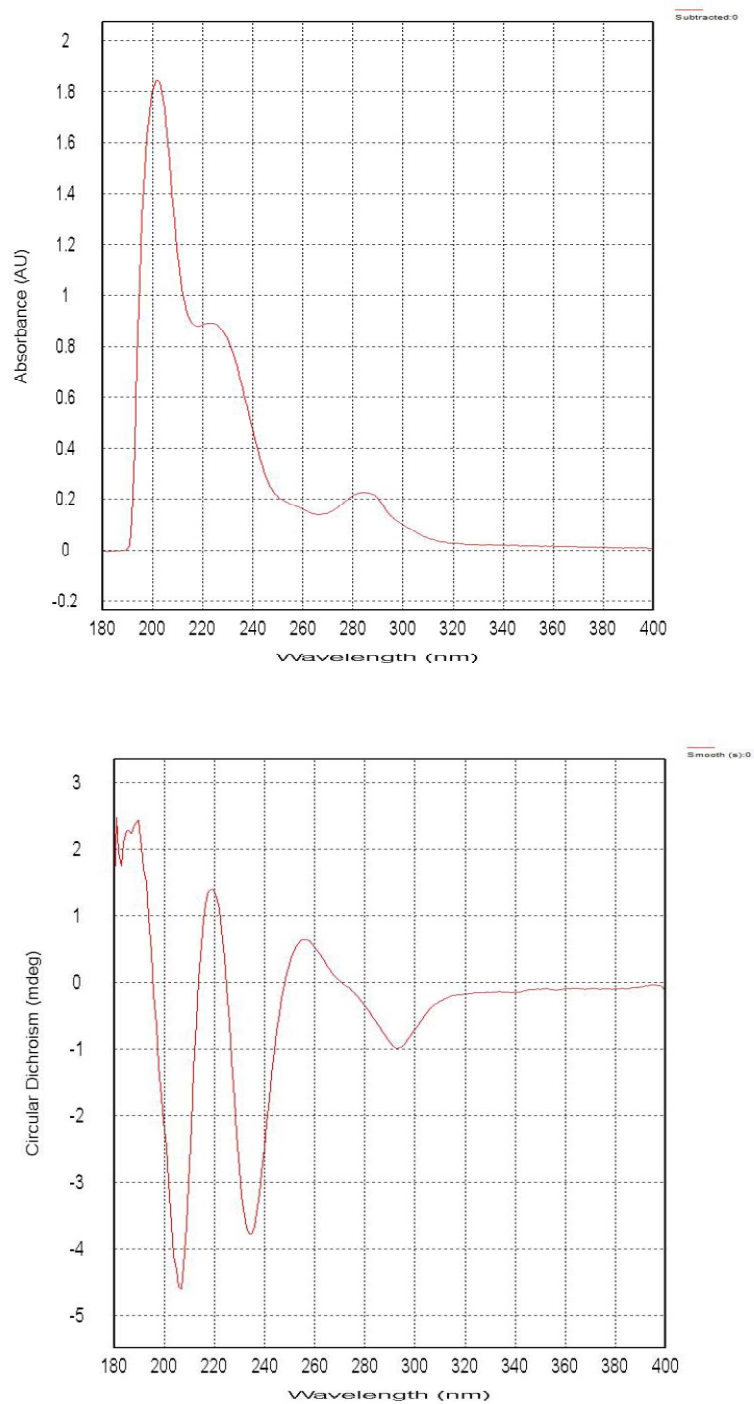


Figure 119. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 4

3.1.5 화합물 5

무색의 검(gum) 형태를 보이는 화합물 5는 HRESIMS를 통하여 positive mode 에서 m/z 753.2534 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{41}H_{42}O_{13}Na$, 753.2523) 의 값을 얻어 그 분자식을 $C_{40}H_{42}O_{13}$ 로 알 수 있었다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz), 6.51 (d, $J = 1.9$ Hz), 6.47 (dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz)], [δ_H 6.69 (d, $J = 8.1$ Hz), 6.51 (m), 6.42 (d, $J = 1.8$ Hz)]과 두 개의 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.69 (d, $J = 1.9$ Hz), 6.57 (d, $J = 1.8$ Hz)], [δ_H 6.68 (d, $J = 1.8$ Hz), 6.36 (d, $J = 1.6$ Hz)]을 확인할 수 있었다. 또한, 두 개의 oxymethylene [δ_H 4.38 (dd, $J = 9.4, 6.2$ Hz), 4.13 (dd, $J = 9.3, 7.8$ Hz)], [δ_H 4.21 (dd, $J = 9.0, 7.7$ Hz), 3.86 (m)], 네 개의 methine [δ_H 2.51, (m)], [δ_H 2.72, (m)], [δ_H 2.48, (m)] [δ_H 2.58, (m)]과 하나의 oxymethine [δ_H 4.41 (d, $J = 7.3$ Hz)], 세 개의 methylene [δ_H 2.76 (d, $J = 6.4$ Hz)], [δ_H 2.60 (d, $J = 7.4$ Hz)], [δ_H 2.97 (dd, $J = 14.2, 6.2$ Hz), 2.87 (dd, $J = 14.2, 5.4$ Hz)], 네 개의 methoxy 기를 확인할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 179.2, 179.0)와 두 개의 butyrolactone ring [δ_C 179.2, 68.4, 46.2, 43.8], [δ_C 179.0, 71.4, 47.1, 40.9]의 존재를 알 수 있었다.

위의 1H 와 ^{13}C NMR 값을 토대로 dibenzylbutyrolactone lignan 골격임을 알 수 있었으며, 화합물 4와 같이 methylene 하나가 oxymethylene으로 바뀐 7*R*-hydroxymatairesinol 와 matairesinol (9)의 중합체인 것을 알 수 있었고, 화합물 4와는 구조이성질체임을 유추하였다. 두 lignan 부분구조들 사이의 탄소-탄소 연결고리를 찾기 위하여 ^{13}C NMR 와 HMBC spectrum을 보았을 때, 이동된 탄소 값들과 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring 수소 (δ_H 6.69, 6.57) 와 (δ_C 74.5) 그리고 (δ_H 6.68, 6.36) 과 (δ_C 34.4)를 통하여 탄소-탄소 결합의 위치가 7*R*-hydroxymatairesinol 의 5번 탄소와 matairesinol 의 5' 탄소임을

알 수 있었다. 추가적으로 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring 수소 (δ_H 6.72, 6.51) 과 (δ_C 34.9) 그리고 (δ_H 6.69, 6.42)과 (δ_C 38.5)를 통하여 나머지 aromatic ring 과 methylene들의 연결을 확인하였으며, 각각의 methoxy 기의 위치는 NOESY spectrum 을 통하여 확인할 수 있었다. (Figure 123)

화합물 5의 상대 및 절대구조는 C-9의 1H NMR 값과 ECD spectrum 의 235, 294 nm 에서 negative Cotton effect 가 나타나는 것을 확인하여 8*R*,8'*R*,8''*R*,8'''*R* 로 규명하였다. (Figure 124) 모든 결과를 종합하여 화합물 5를 5,5'''-(7*R*,8*R*,8'*R*,8''*R*,8'''*R*-4,7,4',4'',4'''-pentahydroxy-3,3',3'',3'''-tetramethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide)로 결정하였다.

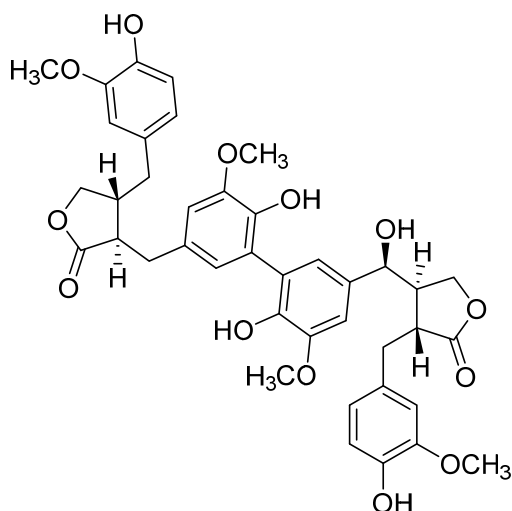


Figure 120. Chemical structure of compound 5

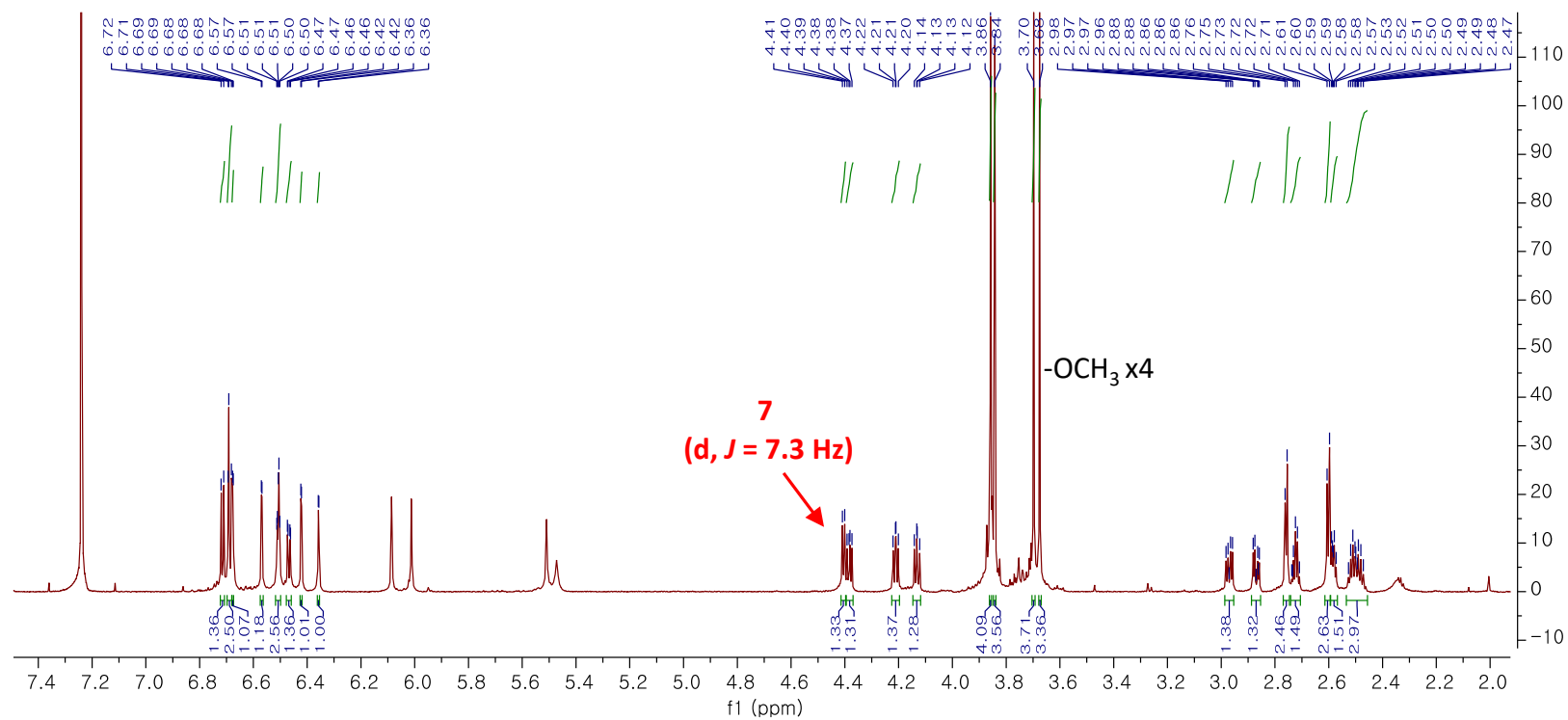


Figure 121. ¹H NMR spectrum of compound 5

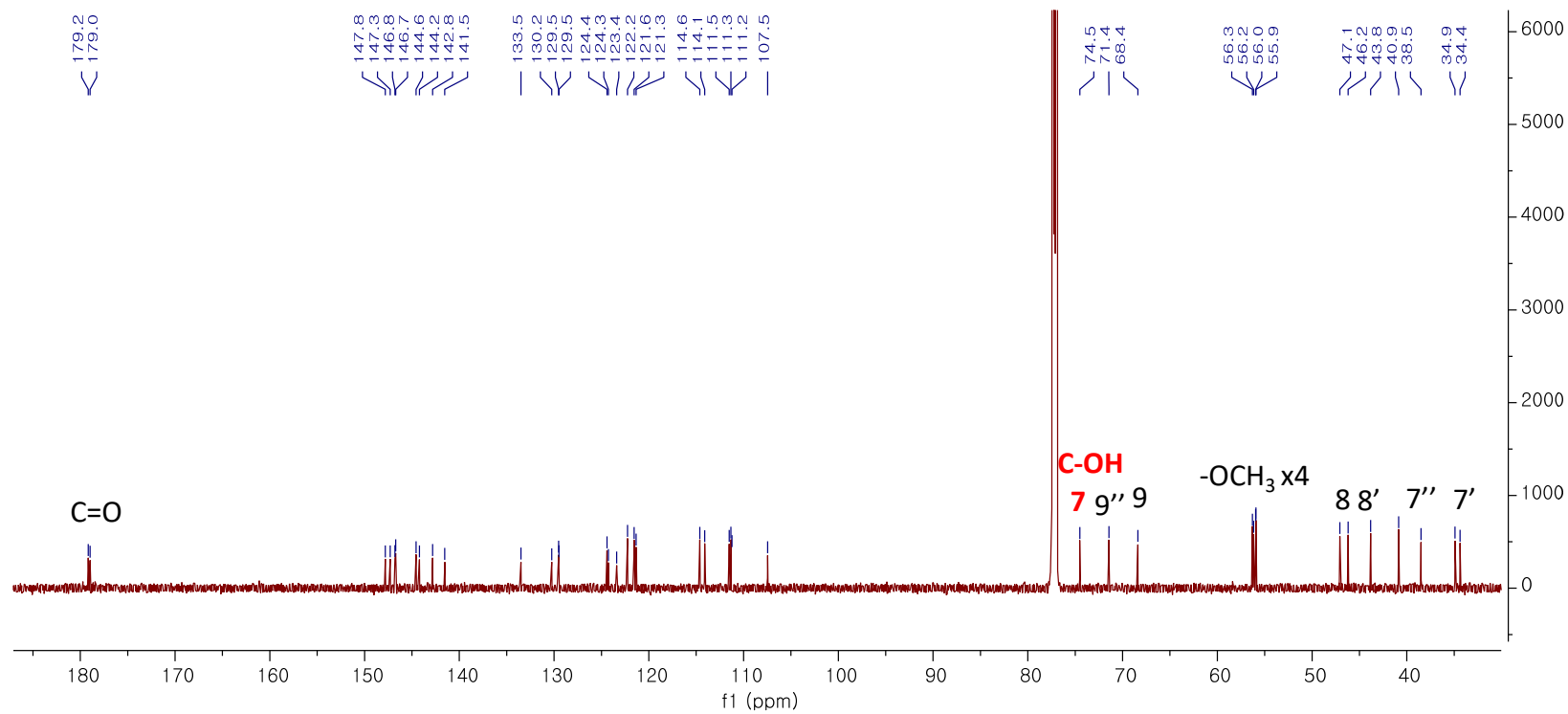


Figure 122. ¹³C NMR spectrum of compound **5**

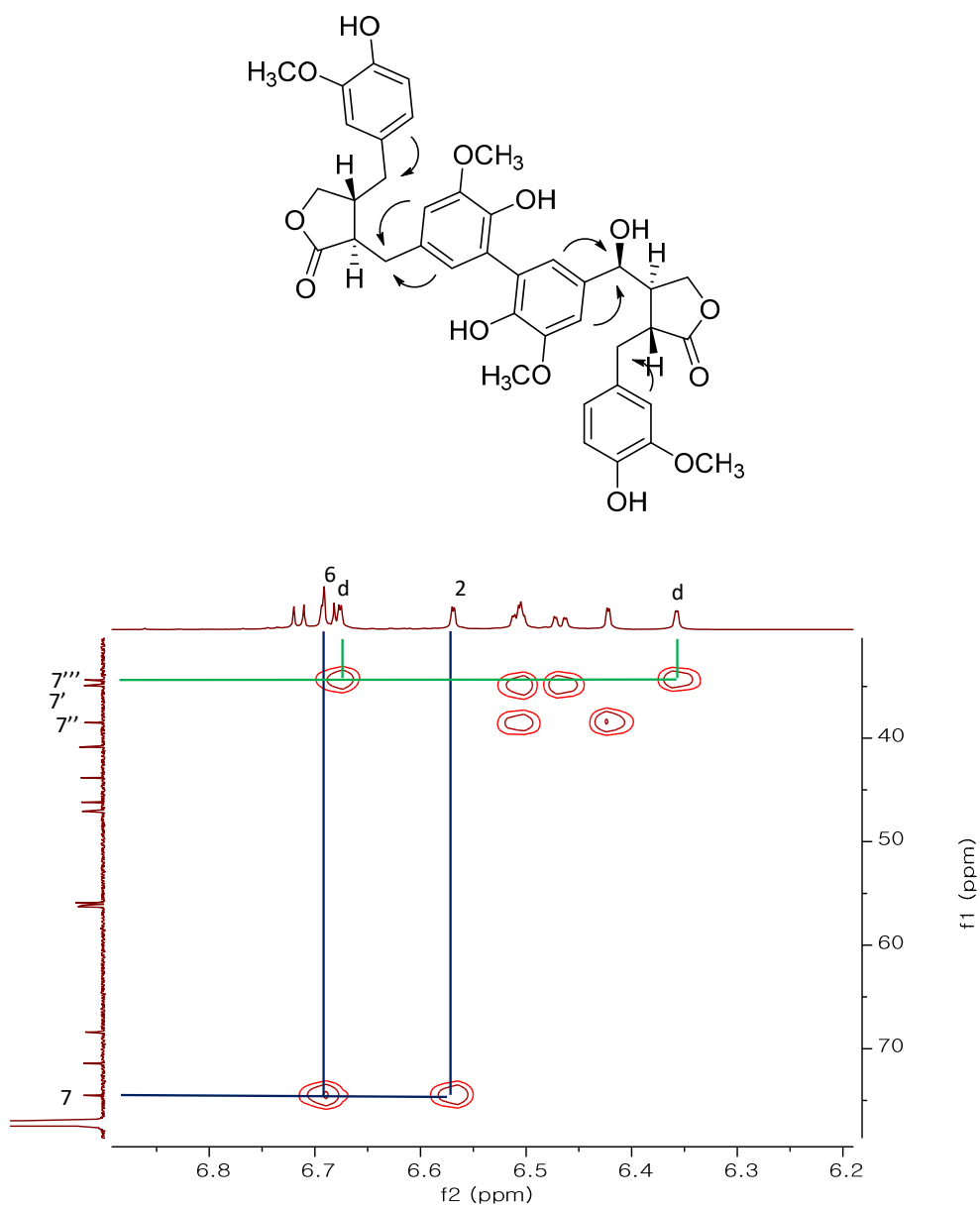


Figure 123. HMBC spectrum of compound 5

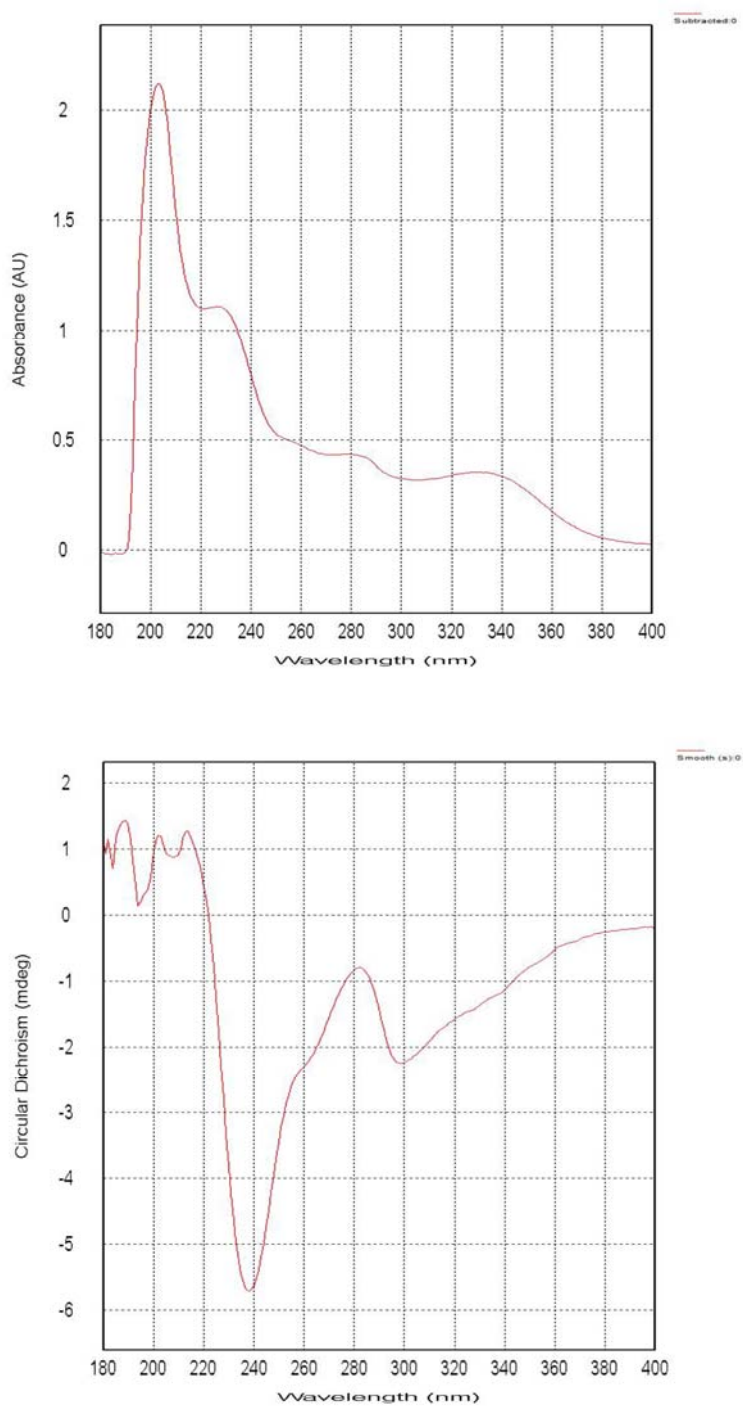


Figure 124. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 5

3.1.6 화합물 6

무색의 검(gum) 형태를 보이는 화합물 6은 HRESIMS를 통하여 positive mode 에서 m/z 741.2903 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{42}H_{45}O_{12}$, 741.2911) 의 값을 얻어 그 분자식을 $C_{42}H_{44}O_{12}$ 로 알 수 있었다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.71 (d, $J = 8.0$ Hz), 6.53 (dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz), 6.46 (d, $J = 8.0, 1.8$ Hz)], [δ_H 6.69 (d, $J = 8.0$ Hz), 6.66 (dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz), 6.59 (d, $J = 2.0$ Hz)] 과 두 개의 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.74 (d, $J = 1.9$ Hz), 6.71 (d, $J = 2.2$ Hz)], [δ_H 7.38 (d, $J = 2.1$ Hz), 7.04 (d, $J = 2.0$ Hz)] 을 확인할 수 있었다. 두 개의 oxymethylene [δ_H 4.42 (m)], [δ_H 4.13 (m), 3.86 (overlapped)], 세 개의 methine [δ_H 3.81, (overlapped)], [δ_H 2.56, (m)], [δ_H 2.55, (m)], 세 개의 methylene [δ_H 2.68 (m), 2.54 (m)], [δ_H 2.96 (dd, $J = 14.1, 5.6$ Hz), 2.91 (dd, 14.1, 4.5 Hz)], [δ_H 3.15 (dd, $J = 14.4, 4.1$)], 한 개의 downfield로 이동된 olefin 수소 [δ_H 7.55 (d, $J = 1.8$ Hz), δ_C 137.2], 여섯 개의 methoxy 기를 확인할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 178.6, 172.7)와 두 개의 butyrolactone ring [δ_C 178.6, 71.3, 46.7, 40.8], [δ_C 172.7, 126.0, 69.5, 39.7]의 존재를 알 수 있었다.

HMBC spectrum 에서 (δ_H 7.55) 와 (δ_C 172.7, 39.7) 의 상호작용을 확인하여, olefin 수소의 위치를 결정 할 수 있었으며, 이와 연결되어 있는 [δ_C 172.7, 126.0, 69.5, 39.7] butyrolactone ring 의 이동된 탄소 값들을 확인하였다. 위의 결과들을 통하여 화합물 6은 arctigenin (10)과 didehydroarctigenin이 결합된 dilignan 임을 알 수 있었다. 두 lignan 부분구조들 사이의 탄소-탄소 연결고리를 찾기 위하여 ^{13}C NMR 와 HMBC spectrum 을 보았을 때, 이동된 탄소 값들과 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring 수소 (δ_H 6.74, 6.71) 와 (δ_C 34.3) 그리고 (δ_H 7.38, 7.04) 와 (δ_C 137.2)를 통하여 aromatic ring 과 7'번 methylene 의 연결을 확인하였고, 이를 통해 탄소-탄소 결합의 위치가 각 lignan

부분구조의 5'번 탄소임을 알 수 있었다. 또한, 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring 수소 (δ_H 6.53, 6.46) 과 (δ_C 38.1) 그리고 (δ_H 6.66, 6.59 와 δ_C 37.1)의 상호작용을 확인하여 aromatic ring 과 7번 methylene들을 연결 할 수 있었다. (Figure 128) 각각의 methoxy 위치는 NOESY spectrum 을 통하여 확인하였다.

화합물 6의 상대 및 절대구조는 C-9의 1H NMR 값과 ECD spectrum의 238, 299 nm 에서 negative Cotton effect 가 나타나는 것을 확인하여 8*R*,8'*R*,8''*R* 로 규명하였다. (Figure 129) 또한 7''' 위치의 olefin 에 따라 *E/Z* configuration을 결정해야 하는데, 7*E*-didehydroarctigenin, 7*Z*-didehydroarctigenin 과의 ^{13}C NMR 비교를 통하여 7*Z*-보다 7*E*-didehydroarctigenin 와 유사한 것을 확인하여 *E*-configuration으로 결정하였다. (Marco et al., 1994, Chyu et al., 2007) 모든 결과를 종합하여 화합물 6을 5,5'''-(8*R*,8'*R*,8''*R*,8'''*R*,7'''*E*-4,4'''-dihydroxy-3,43',3'',4'',3'''-hexamethoxy-lignan-9,9';9'',9'''-diolide)로 결정하였다.

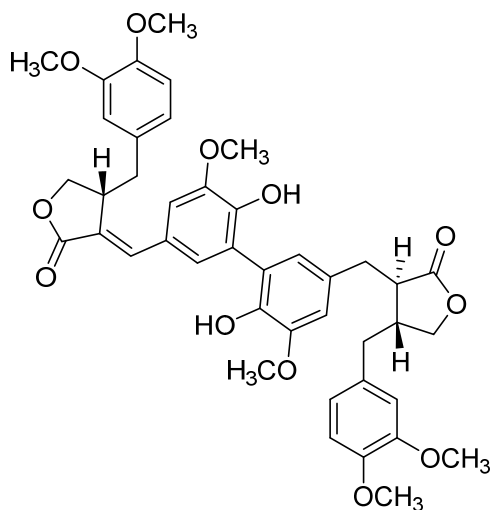


Figure 125. Chemical structure of compound 6

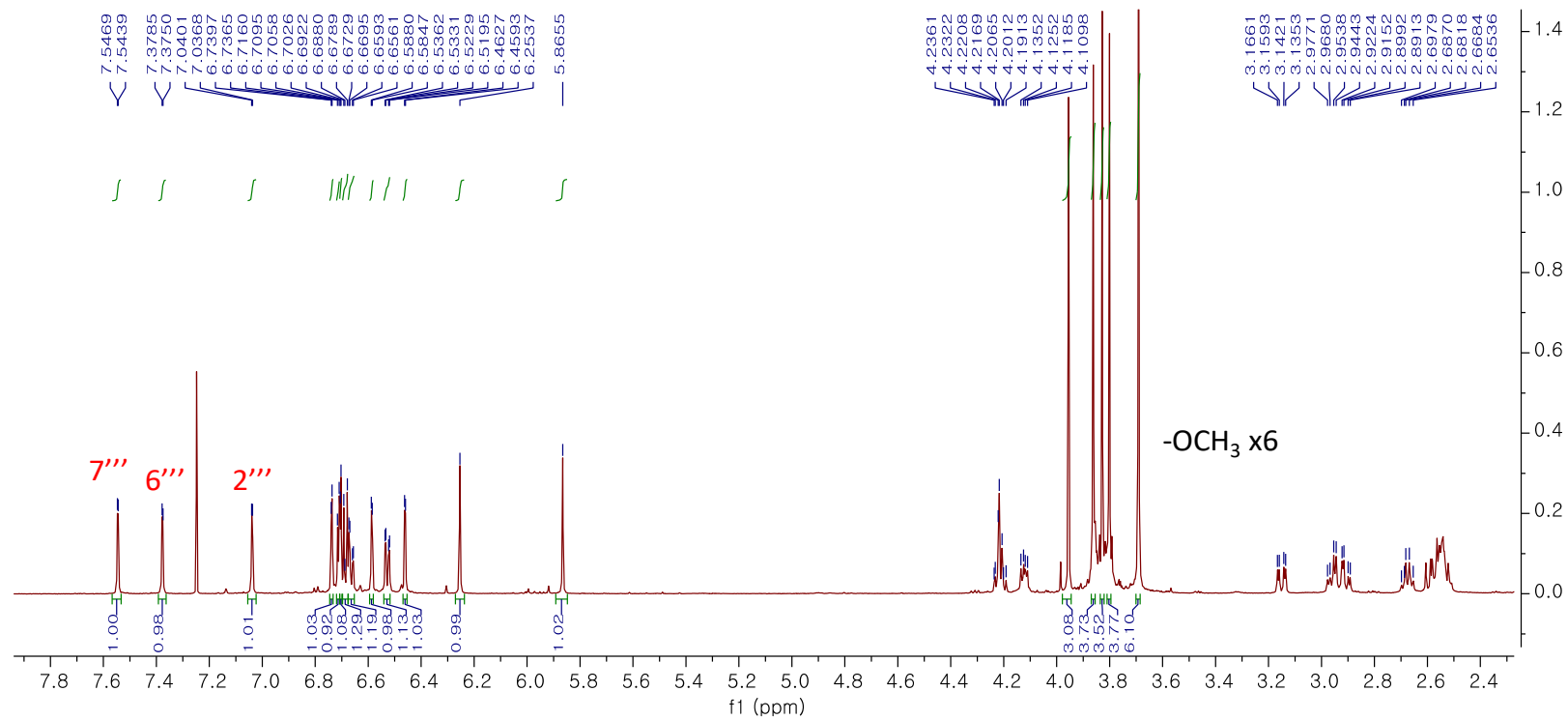


Figure 126. ¹H NMR spectrum of compound 6

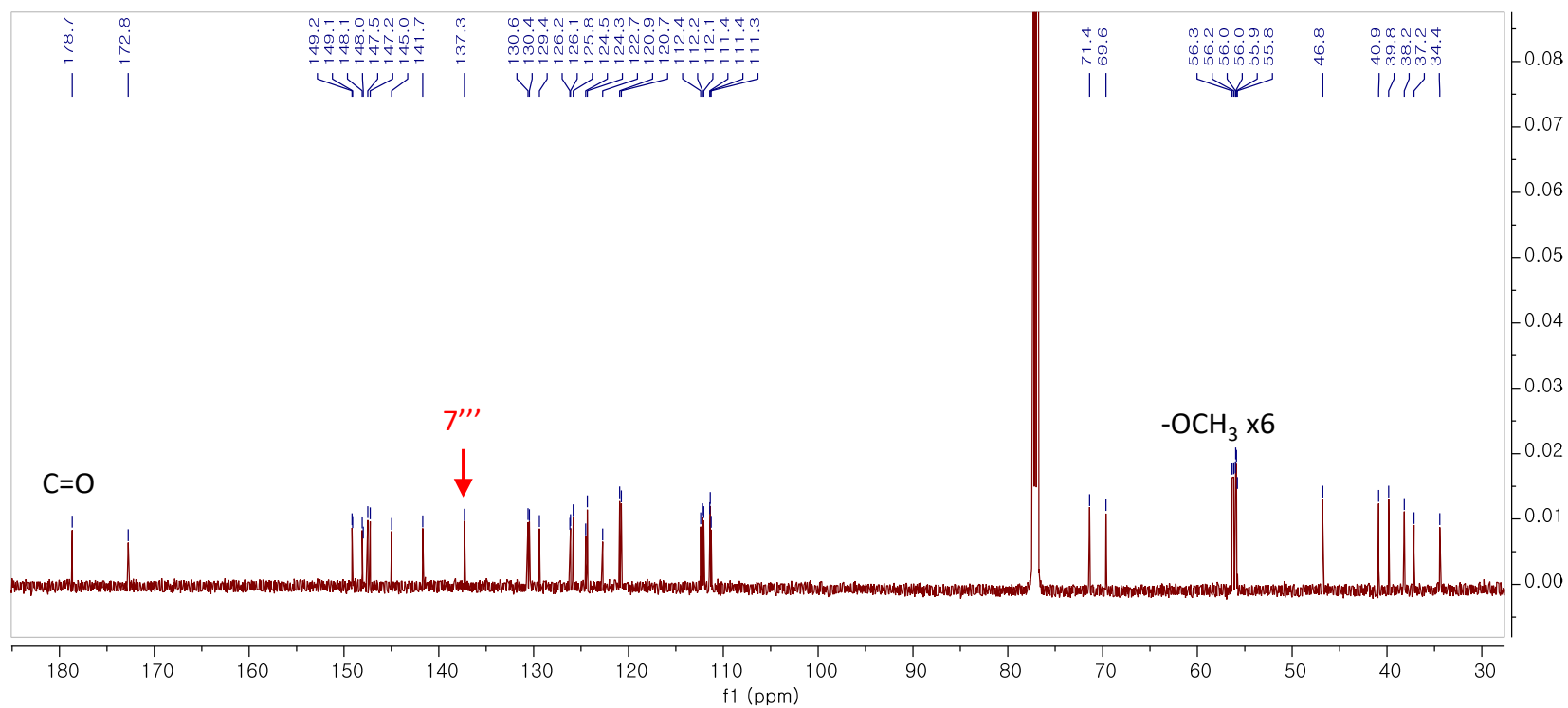


Figure 127. ^{13}C NMR spectrum of compound 6

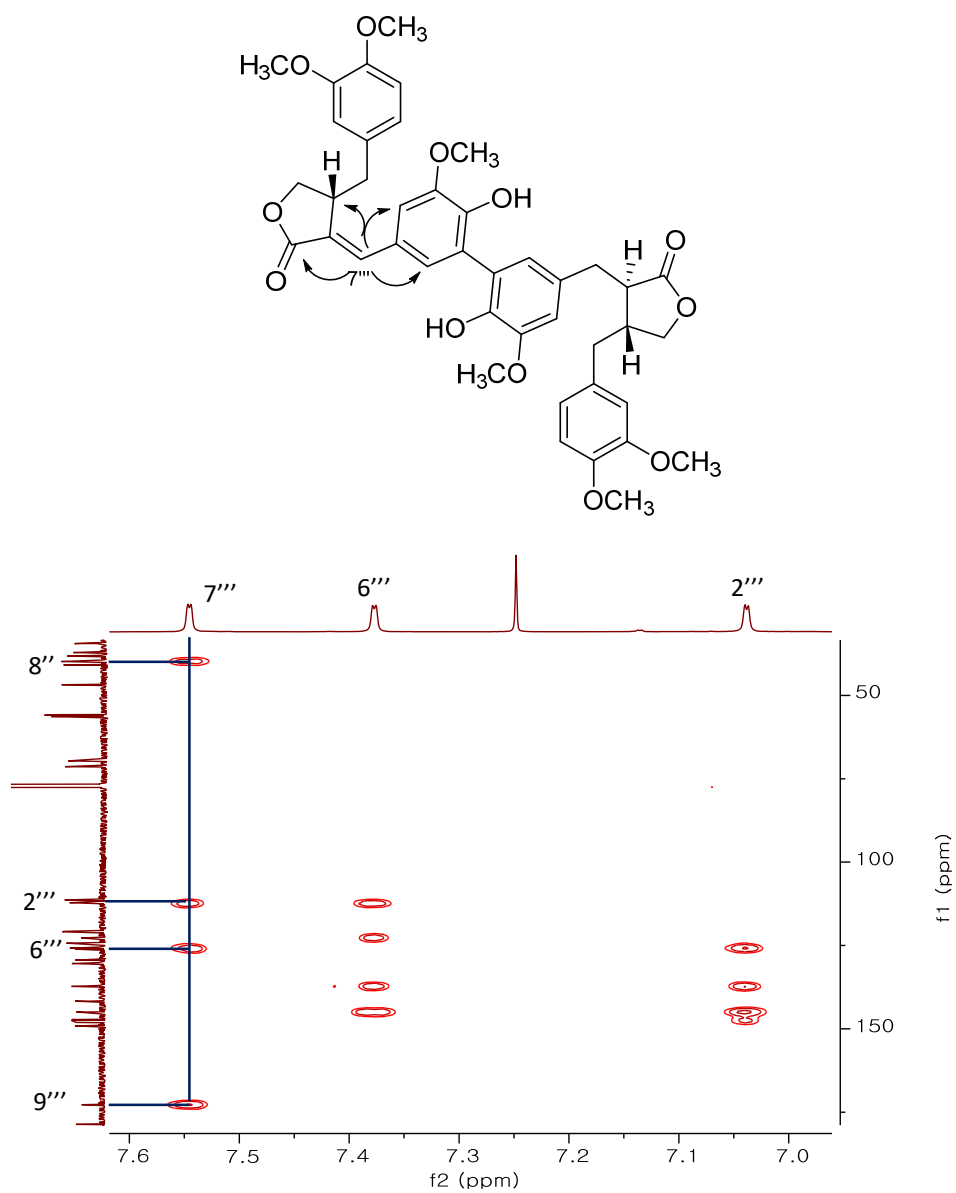


Figure 128. HMBC spectrum of compound 6

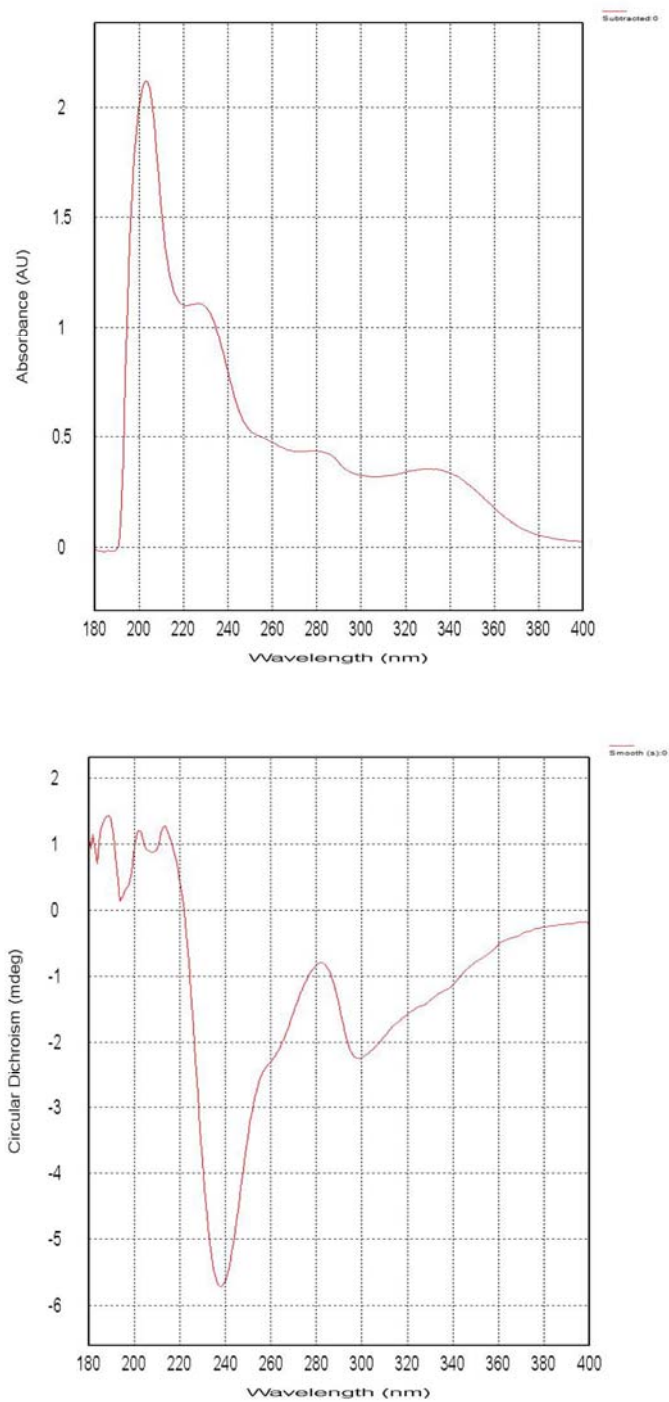


Figure 129. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 6

3.1.7 화합물 7

화합물 7은 무색의 검(gum) 형태를 나타내는 물질로, HRESIMS를 통하여 positive mode 에서 m/z 743.3055 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{42}H_{47}O_{12}$, 743.3068) 의 값을 얻어 그 분자식을 $C_{42}H_{46}O_{12}$ 로 알 수 있었다. 1H NMR 에서 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.68 (d, $J = 8.2$ Hz), 6.52 (dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz), 6.45 (dd, $J = 1.9$ Hz)] 와 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.70 (d, $J = 1.9$ Hz), 6.66 (d, $J = 1.8$ Hz)], oxymethylene [δ_H 4.12 (m), 3.85 (m)], 두 개의 methine [δ_H 2.55 (m), 2.54 (m)], 두 개의 methylene [δ_H 2.66 (m), 2.51 (m)], [δ_H 2.94, (d, $J = 3.9$ Hz)], 세 개의 methoxy를 확인 할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 178.9)와 butyrolactone ring [δ_C 178.9, 71.5, 46.8, 40.9]의 존재를 알 수 있었다. 이러한 1H 와 ^{13}C NMR 값으로 dibenzylbutyrolactone lignan 골격임을 알 수 있었으며, 이 값들은 arctigenin (10)과 유사함을 확인 할 수 있었다. 또한, 측정된 MS 값과 ^{13}C NMR 에서 이동된 5' 탄소 값을 통하여 dilignan 임을 예상 할 수 있었다. 또한, HMBC spectrum에서 (δ_H 6.68, 6.45) 와 (δ_C 38.2) 그리고 (δ_H 6.70, 6.66) 와 (δ_H 34.6)의 상호작용을 확인하여 각각의 aromatic ring 과 methylene 의 연결을 알 수 있었다. 화합물 7의 상대 및 절대구조는 C-9의 1H NMR 값과 ECD spectrum의 234, 287 nm 에서 negative Cotton effect 가 나타나는 것을 확인하여 8*R*,8'*R* 로 결정하였으며, (Figure 133) 모든 결과를 종합하여 화합물 7을 diarctigenin으로 동정하였다. (Han et al., 1994)

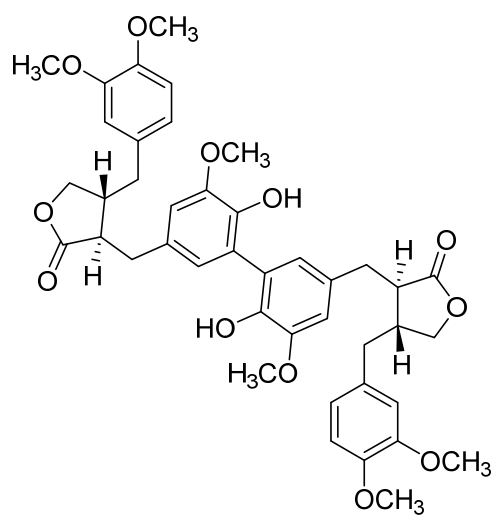


Figure 130. Chemical structure of compound 7

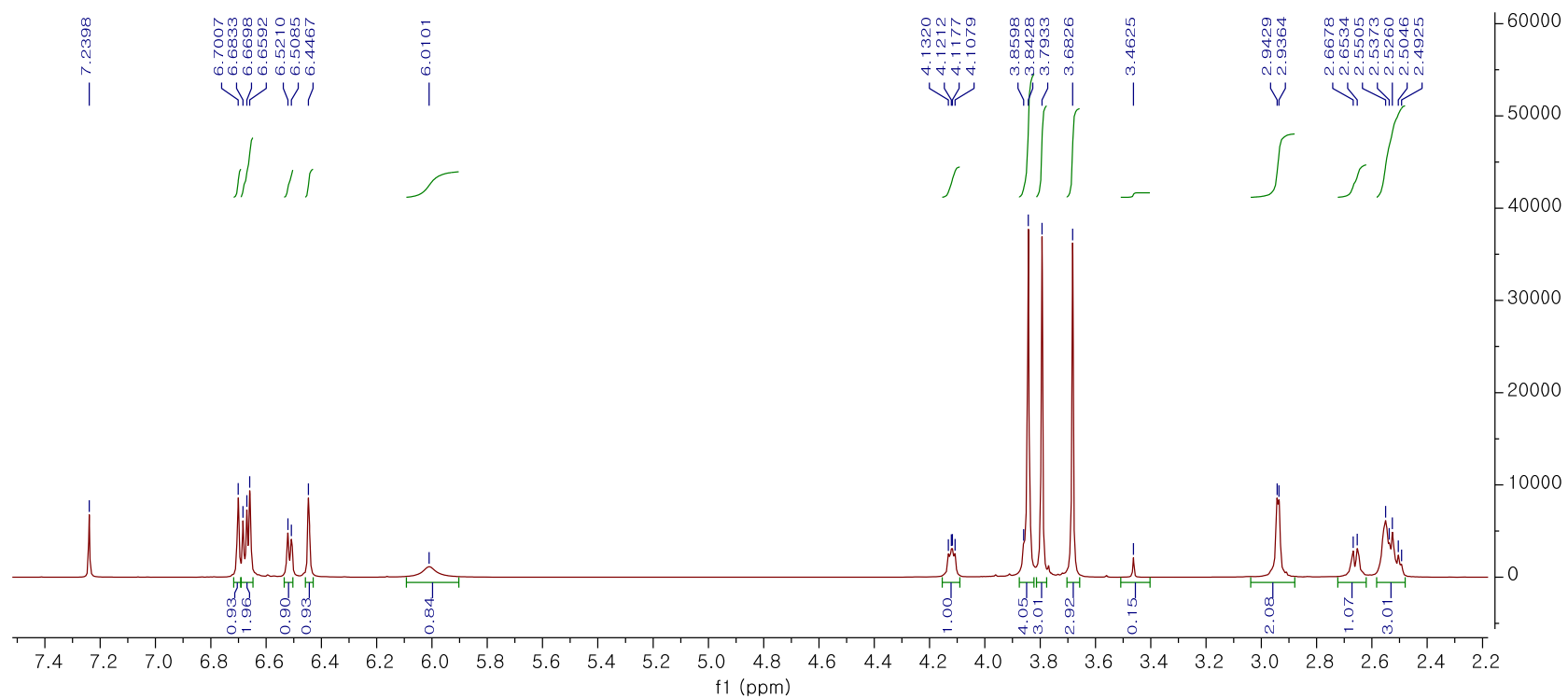


Figure 131. ^1H NMR spectrum of compound **7**

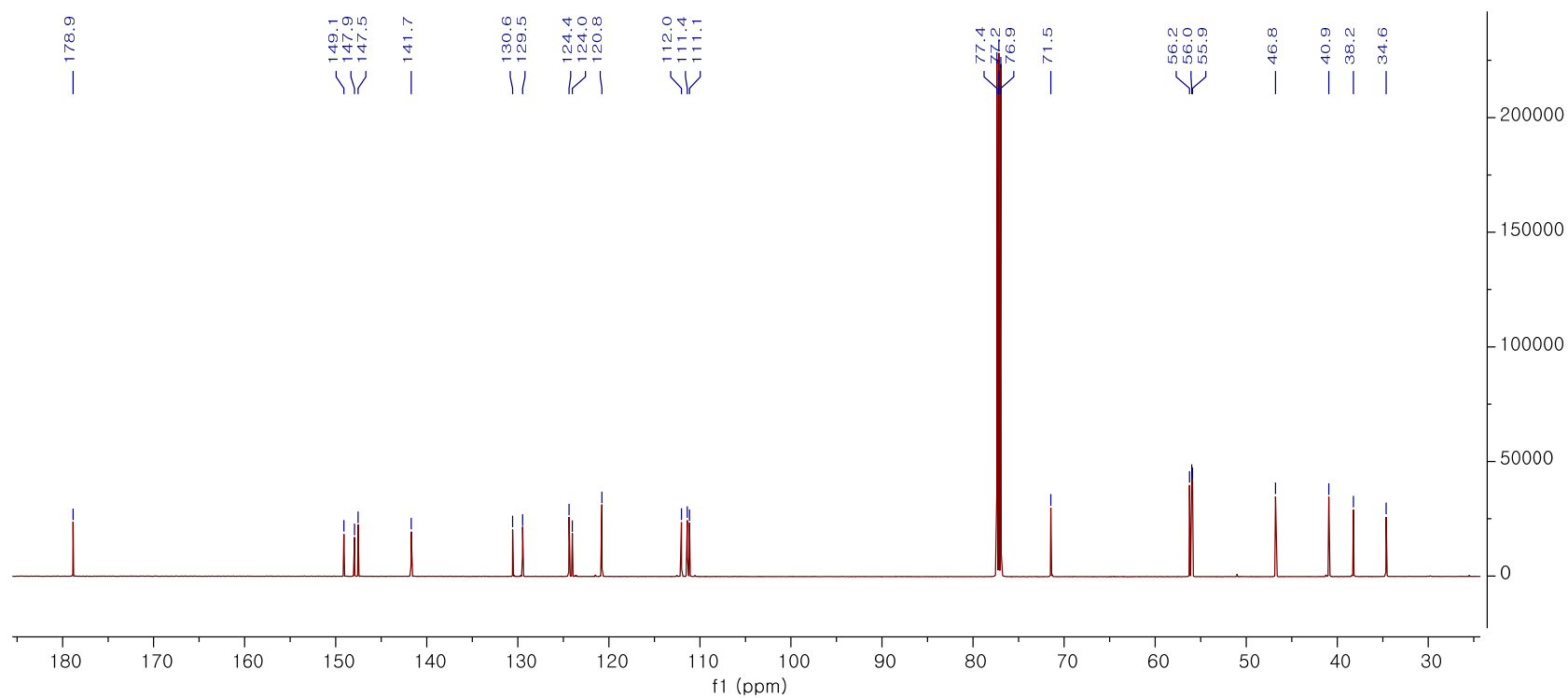


Figure 132. ¹³C NMR spectrum of compound 7

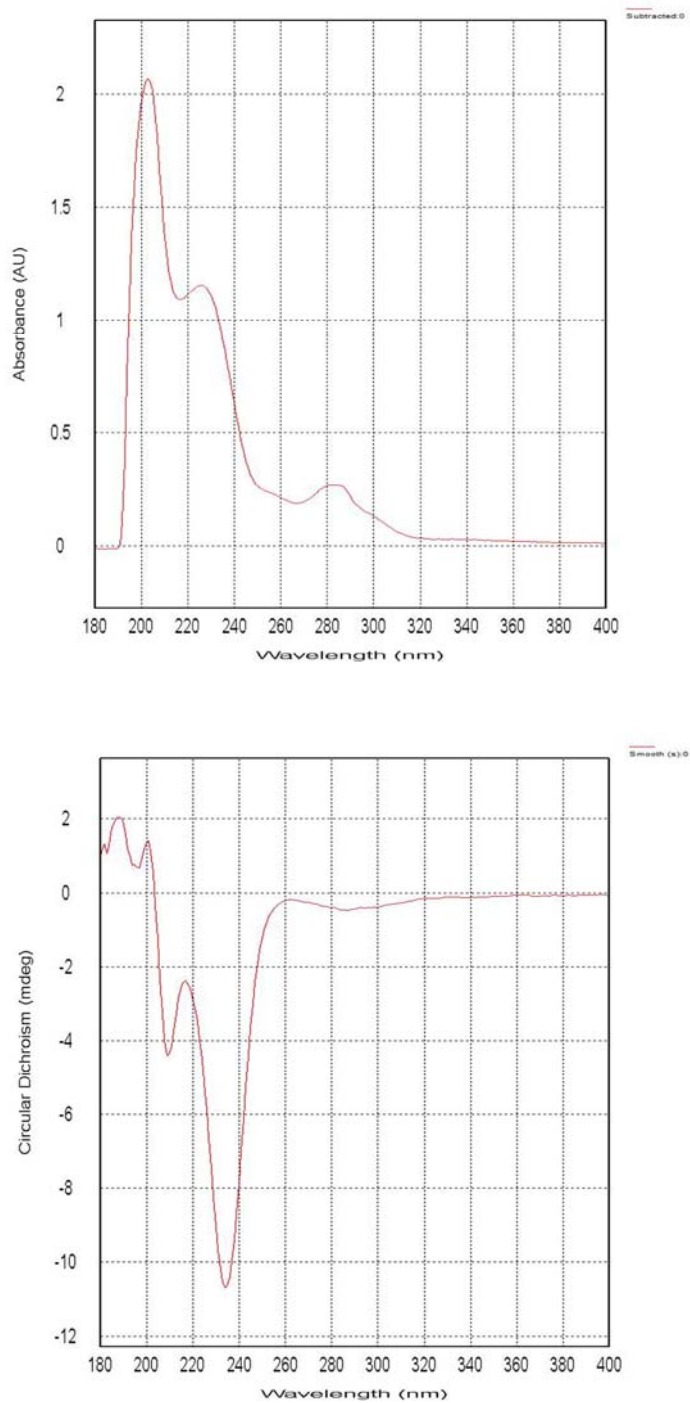


Figure 133. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 7

3.1.8 화합물 8

화합물 8은 무색의 검(gum) 형태를 나타내는 물질로, HRESIMS를 통하여 positive mode 에서 m/z 743.3066 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{42}H_{47}O_{12}$, 743.3068) 의 값을 얻어 그 분자식을 $C_{42}H_{46}O_{12}$ 로 알 수 있었다. 1H NMR 에서 세 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.79 (d, $J = 7.9$ Hz, H-5'), 6.74 (d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.59 (dd, $J = 8.2$, 2.0 Hz, H-6')], [δ_H 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.52 (dd, $J = 8.0$, 2.1 Hz, H-6), 6.45 (d, $J = 2.0$ Hz, H-2)], [δ_H 6.70 (d, $J = 8.0$ Hz, H-5''), 6.48 (dd, $J = 7.8$, 2.0 Hz, H-6''), 6.47 (d, $J = 2.0$ Hz, H-2'')] 와 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 6.43 (d, $J = 1.8$ Hz, H-2'''), 6.35 (d, $J = 1.8$ Hz, H-6''')]을 확인하였다. Aromatic ring에 나타나는 수소의 개수가 화합물 1-7 보다 하나가 더 많이 관측되었기 때문에, 탄소-탄소 결합이 아닌 화합물임을 예상할 수 있었다. 네 개의 methine [δ_H 2.58 (m, H-8'), 2.48 (m, H-8, 8'''), 2.43 (m, H-8'')], 네 개의 methylene [δ_H 2.96 (dd, $J = 14.1$, 5.4), 2.91 (dd, $J = 14.1$, 6.7), H-7'), [δ_H 2.83 (dd, $J = 14.1$, 5.2 Hz), 2.78 (dd, $J = 14.2$, 6.6 Hz), H-7''), [δ_H 2.60 (m), 2.54 (m), H-7], [δ_H 2.47 (m), 2.44 (m), H-7''], 두 개의 oxymethylene [δ_H 4.14 (dd, $J = 9.1$, 7.3 Hz), 3.86 (dd, $J = 9.2$, 7.6 Hz), H-9], [δ_H 4.06 (dd, $J = 9.1$, 7.3 Hz), 3.82 (피크가 가려짐), H-9''], 여섯 개의 methoxy를 확인 할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 178.7, 178.6)와 두 개의 butyrolactone ring [δ_C 178.7, 71.4, 46.7, 41.2], [δ_C 178.6, 71.3, 46.6, 41.1]의 존재를 알 수 있었다. 이러한 1H 와 ^{13}C NMR 값으로 dibenzylbutyrolactone lignan 골격임을 알 수 있었으며, 이 값들은 arctigenin (10)과 유사한 골격을 포함하는 화합물임을 확인 할 수 있었다.

화합물 8에서 상대 및 절대구조는 C-9의 1H NMR 값과 ECD spectrum의 232, 289 nm 에서 negative Cotton effect 가 나타나는 것을 확인하여 8*R*,8'*R* 로 규명하였다. (Figure 137) 모든 결과를 종합하

여 화합물 8을 문헌치와 비교하여 Conicaol A로 동정하였다. (Fan et al., 2006)

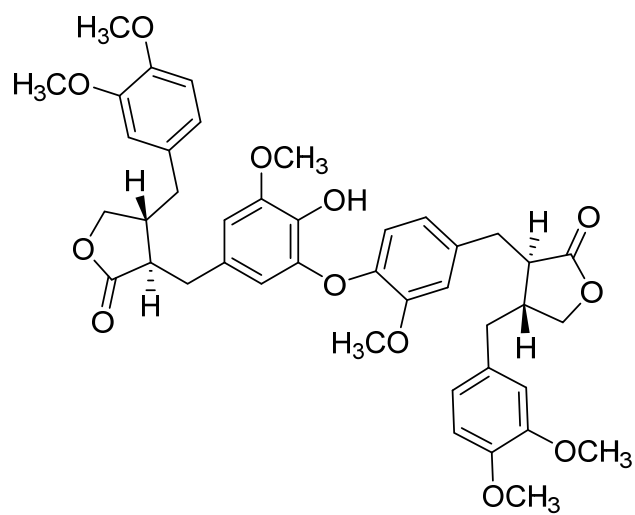


Figure 134. Chemical structure of compound 8

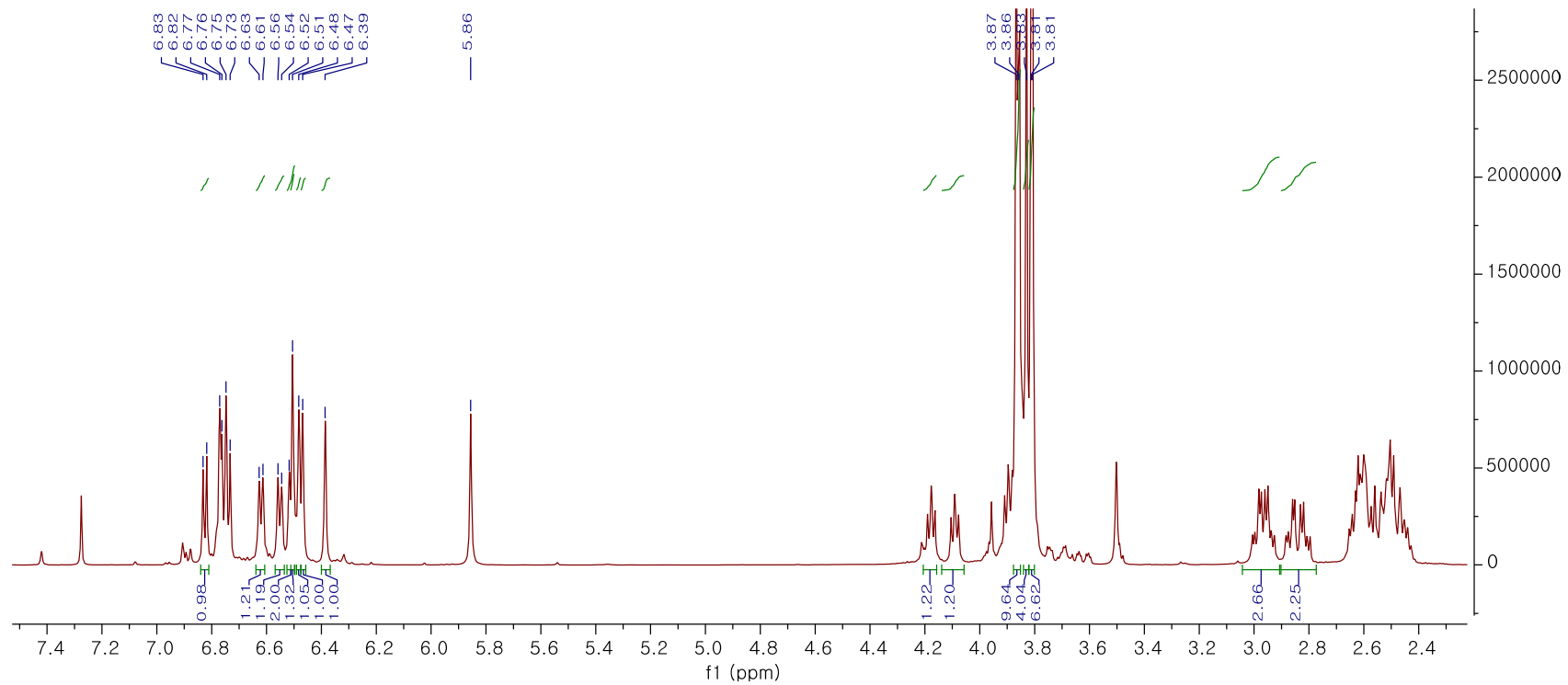


Figure 135. ¹H NMR spectrum of compound 8

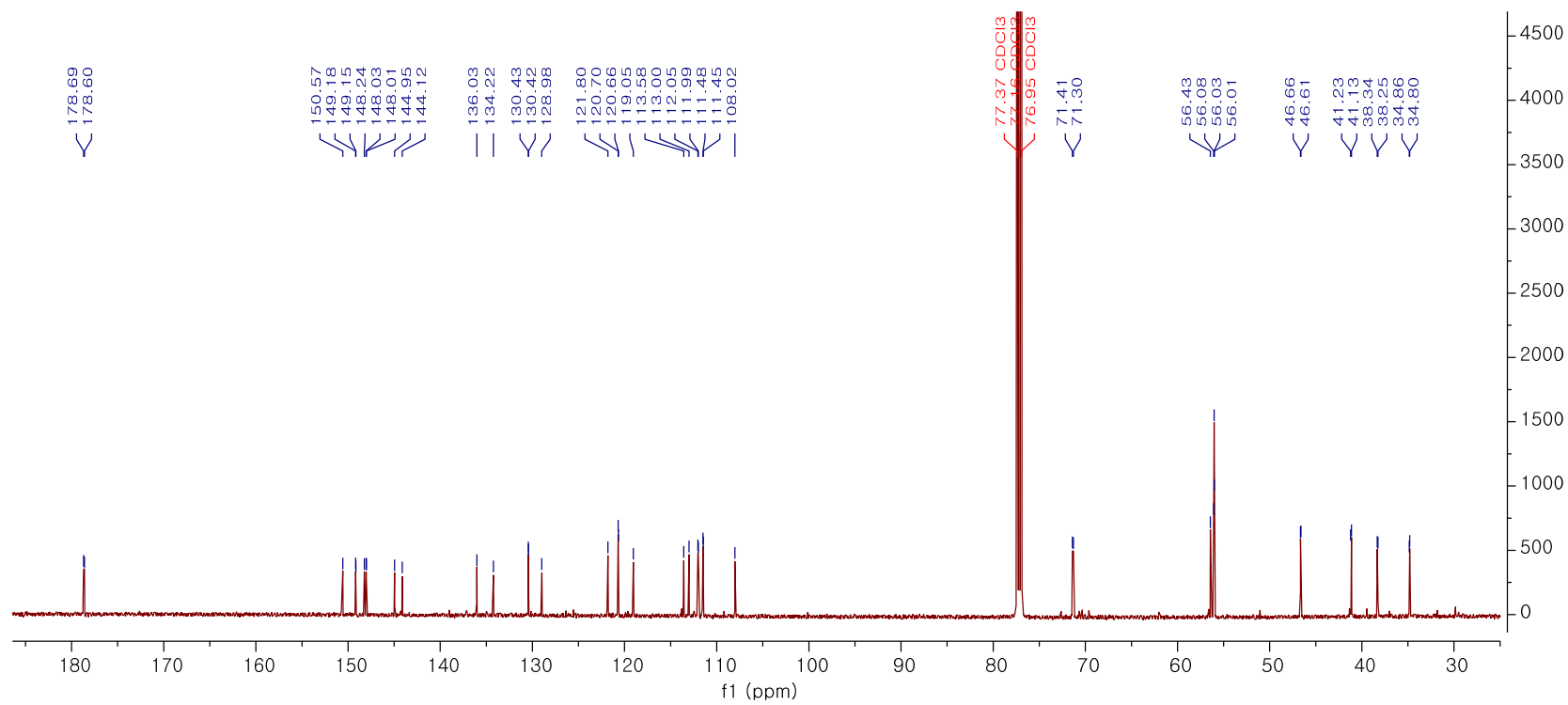


Figure 136. ¹³C NMR spectrum of compound 8

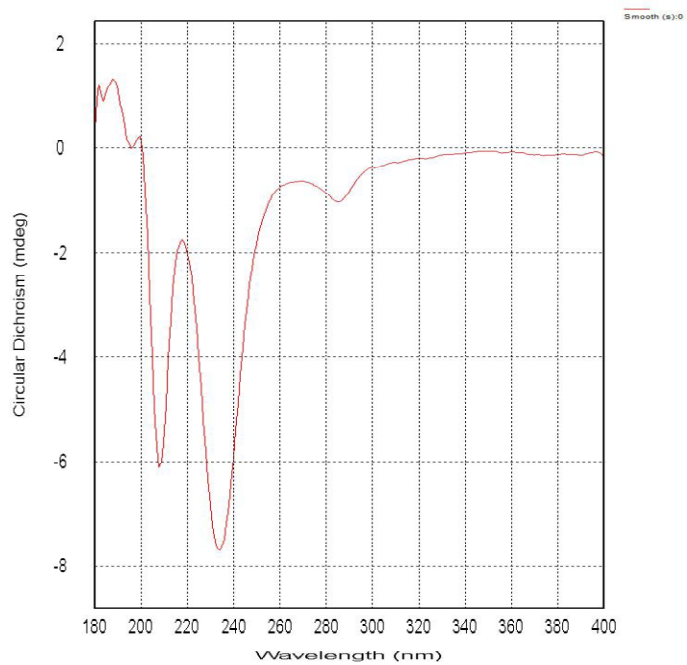
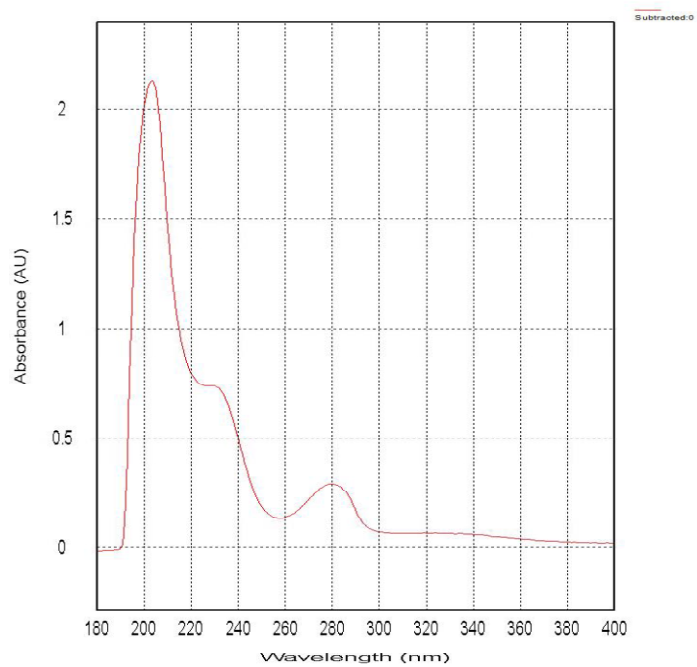


Figure 137. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 8

3.1.9 화합물 9

화합물 9는 HRESIMS 측정을 통하여 positive mode 에서 m/z 359.1492 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{20}H_{23}O_6$, 359.1495) 의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{20}H_{22}O_6$ 로 확인하였다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치 환된 aromatic ring [δ_H 6.79 (d, $J = 8.3$ Hz), 6.59 (br s), 6.58 (m)], [δ_H 6.77 (d, $J = 8.0$ Hz), 6.48 (dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.39 (d, $J = 2.0$ Hz)]과 oxymethylene [δ_H 4.16 (dd, $J = 9.2, 7.0$ Hz), 3.86 (dd, $J = 9.1, 7.0$ Hz)], 두 개의 methine [δ_H 2.50(m)] x 2, 두 개의 methylene [δ_H 2.50 (m)], [δ_H 2.93 (dd, $J = 14.1, 5.3$ Hz), 2.85 (dd, $J = 14.1, 6.7$ Hz)], 두 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 178.9)의 존재를 알 수 있었다. 위에서 언급한 1H 와 ^{13}C NMR의 값들을 통하여 화합물 9를 문헌치와 대조하여 matairesinol 로 동정 할 수 있었다. 동정한 matairesinol의 절대구조는 ECD spectrum 을 통하여, 232, 289 nm 에서 negative Cotton effect를 확인 하여 8*R*,8'*R* 로 결정하였다. (Figure 141) (Rhaman et al., 1990)

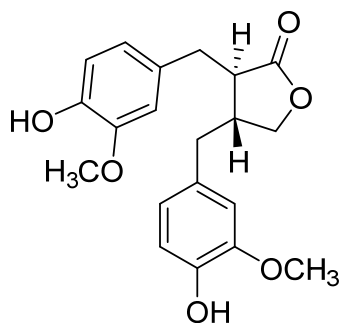


Figure 138. Chemical structure of compound 9

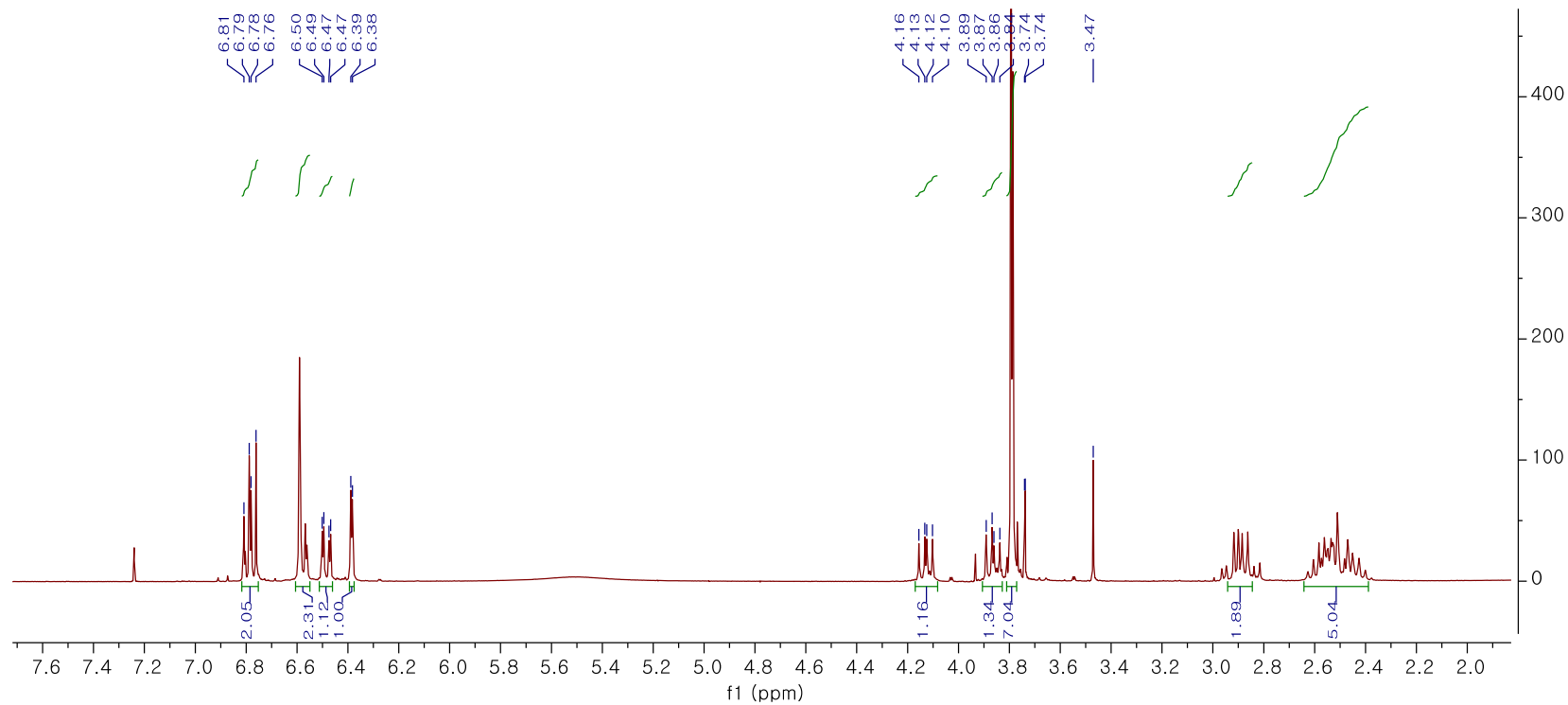


Figure 139. ¹H NMR spectrum of compound 9

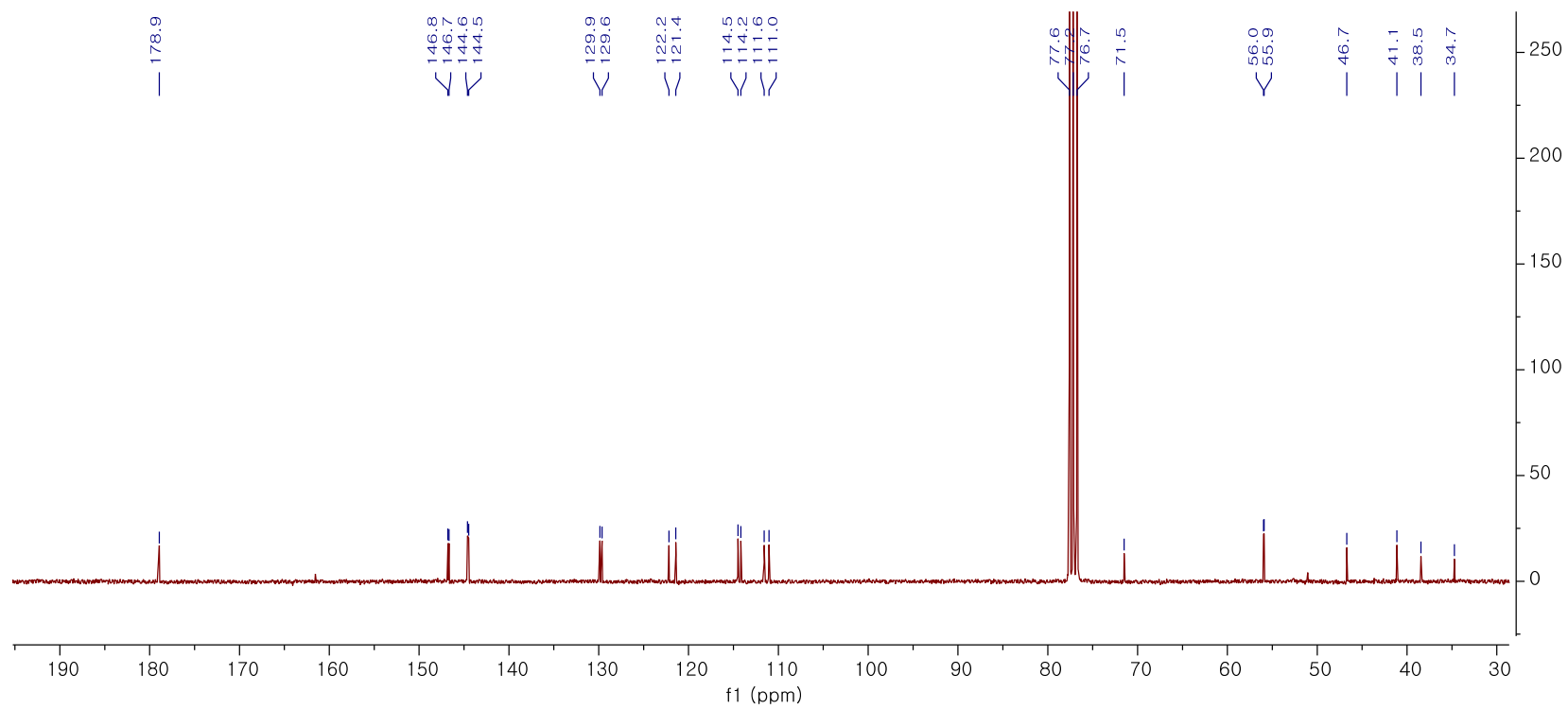


Figure 140. ¹³C NMR spectrum of compound 9

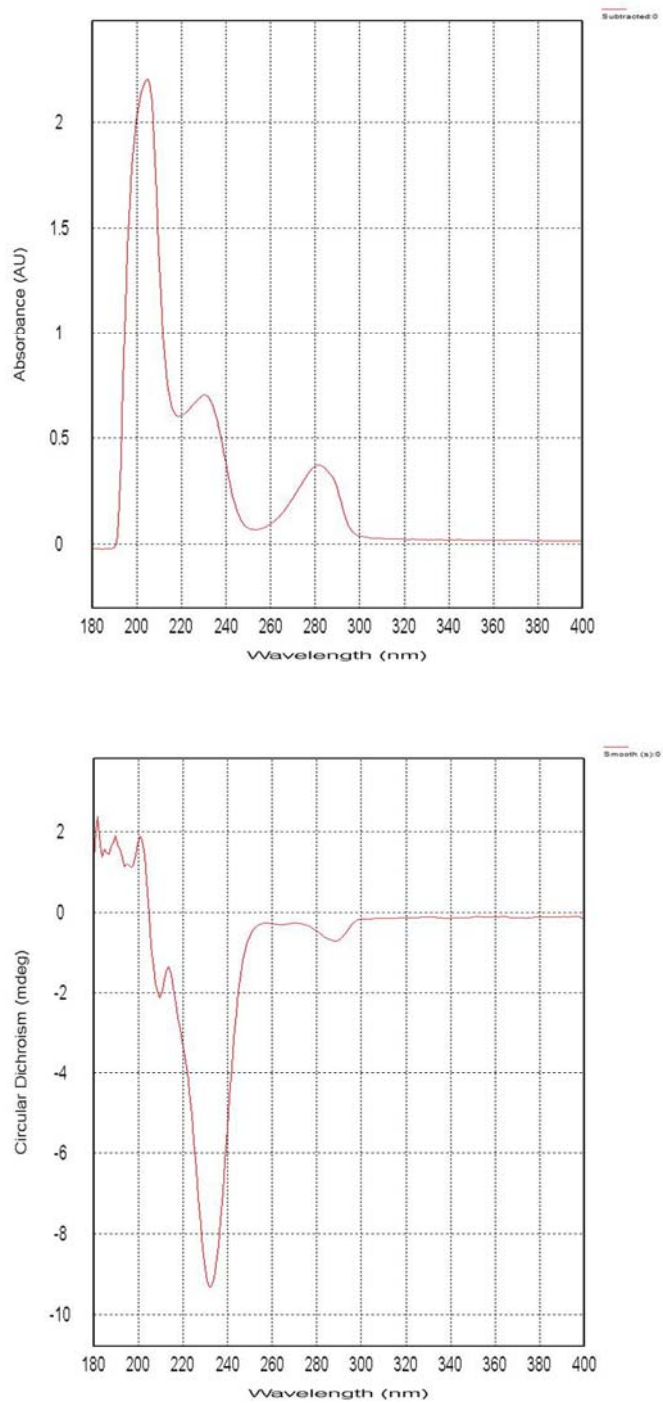


Figure 141. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 9

3.1.10 화합물 10

화합물 10은 HRESIMS 측정을 통하여 positive mode 에서 m/z 373.1653 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{21}H_{25}O_6$, 373.1651)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{21}H_{24}O_6$ 로 확인하였다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치 환된 aromatic ring [δ_H 6.72 (d, $J = 8.1$ Hz), 6.61 (d, $J = 1.9$ Hz), 6.58 (dd, $J = 7.9, 2.0$ Hz)]과 oxymethylene [δ_H 4.11 (dd, $J = 9.2, 6.9$ Hz), 3.85 (dd, $J = 8.9, 6.9$ Hz)], 두 개의 methine [δ_H 2.52 (m)] x 2, 두 개의 methylene [δ_H 2.52 (m)], [δ_H 2.90 (m), 2.88 (m)], 세 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 178.9)의 존재를 알 수 있었다. 위에서 언급한 1H 와 ^{13}C NMR의 값들을 통하여 화합물 10을 문헌치와 대조하여 arctigenin으로 동정 할 수 있었다. 동정한 arctigenin의 절대구조는 ECD spectrum 을 통하여, 233, 278 nm 에서 negative Cotton effect를 확인하여 8*R*,8'*R* 로 결정 하였다. (Figure 145) (Rhaman et al., 1990)

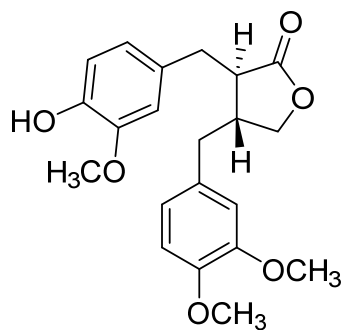


Figure 142. Chemical structure of compound 10

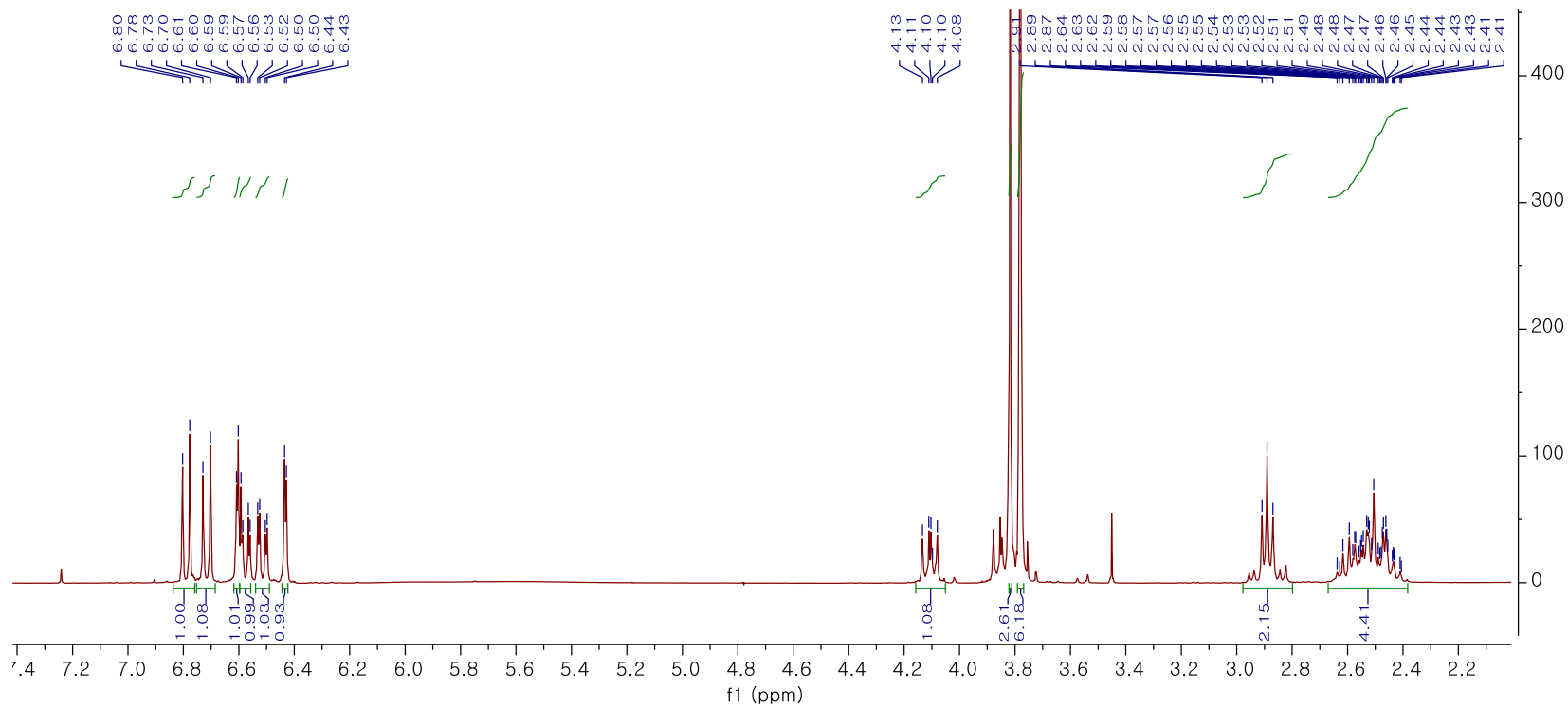


Figure 143. ^1H NMR spectrum of compound 10

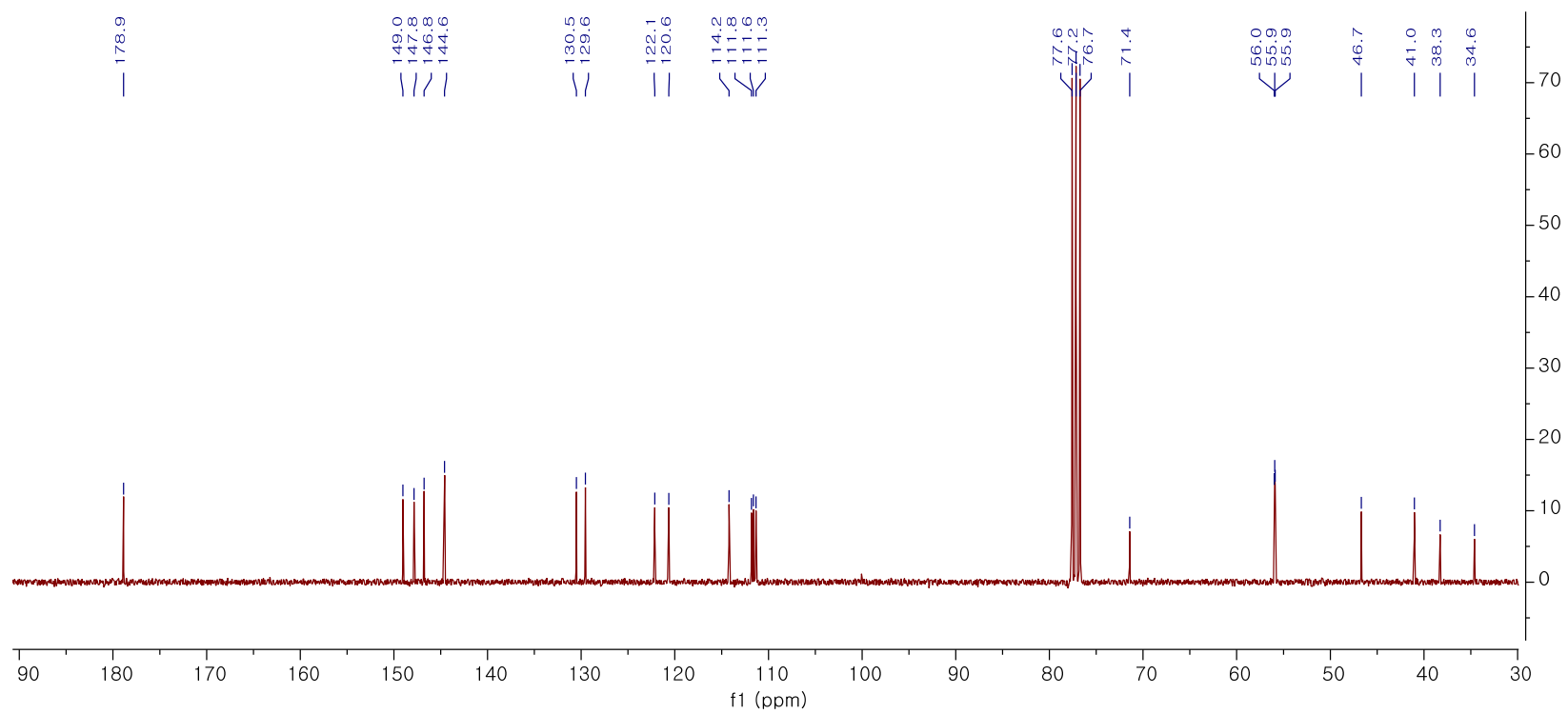


Figure 144. ^{13}C NMR spectrum of compound 10

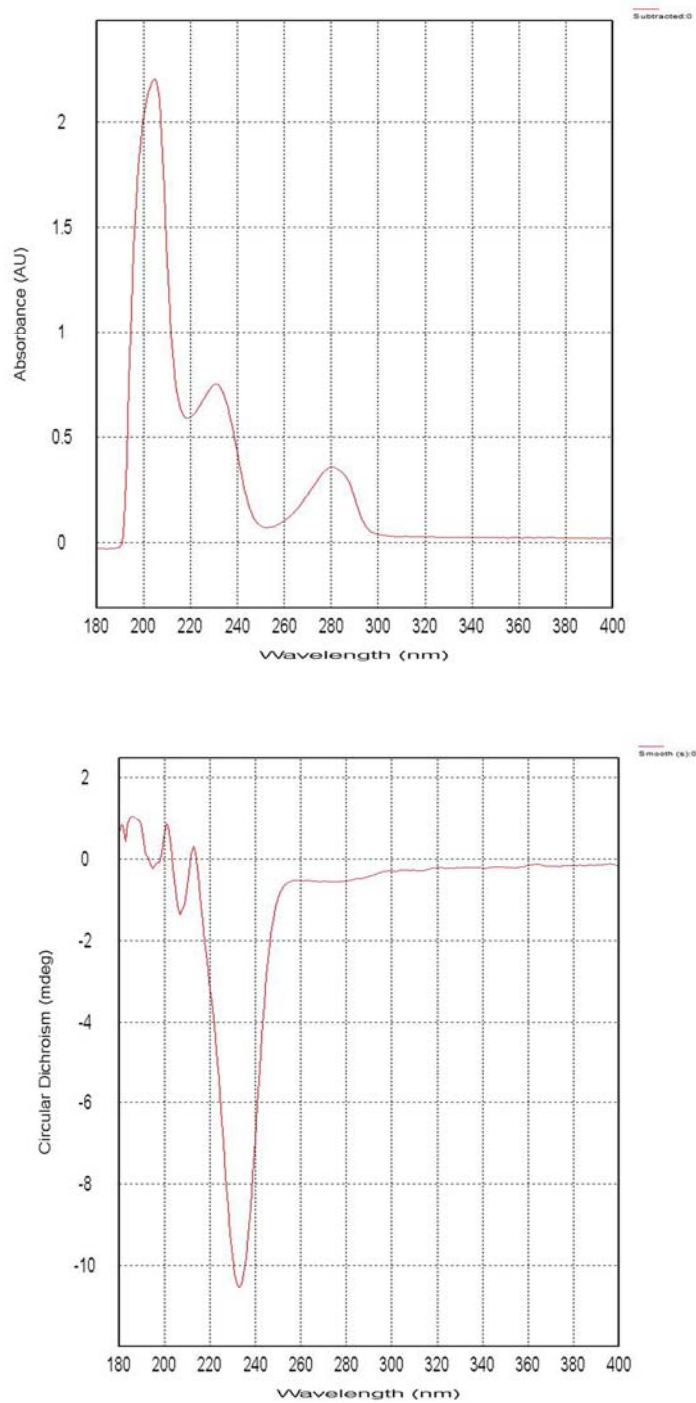


Figure 145. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 10

3.1.11 화합물 11

화합물 11는 HRESIMS 측정을 통하여 positive mode 에서 m/z 413.1573 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{21}H_{26}O_6Na$, 413.1576)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{21}H_{26}O_7$ 로 확인하였다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.84 (d, J = 8.5 Hz), 6.78 (m), 6.76 (m)], [δ_H 6.86 (d, J = 8.0 Hz), 6.78 (m), 6.72 (dd, J = 8.0, 1.9 Hz)]과 두 개의 oxymethylene [δ_H 3.29 (m)], [δ_H 4.13 (dd, J = 9.2, 5.0 Hz), 4.01 (dd, J = 9.2, 7.7 Hz)], 두 개의 methine [δ_H 1.93 (dq, J = 7.9, 7.9, 6.6, 5.0 Hz)], [δ_H 2.52 (tdd, J = 7.9, 7.9, 6.6, 5.0 Hz)], 두 개의 oxymethine [δ_H 4.46 (d, J = 7.9 Hz)], [δ_H 4.02 (d, J = 8.2 Hz)], 세 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 furan ring (δ_C 70.9, 63.0, 51.9, 49.9)의 존재를 알 수 있었다. 화합물 11의 절대구조는 NOESY spectrum 과 위에서 언급한 1H 와 ^{13}C NMR의 값들을 통하여 문헌치와 대조하여 결정하였으며, 이상의 결과로 7'*R**-methoxy-7-*epi*-lariciresinol으로 동정 할 수 있었다. (Dang et al., 2017)

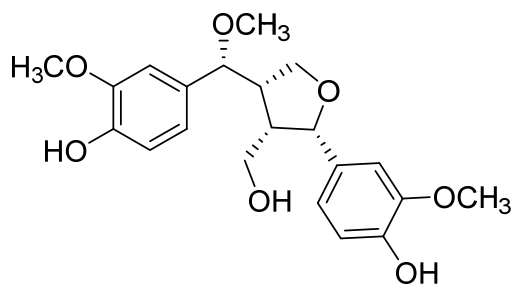


Figure 146. Chemical structure of compound 11

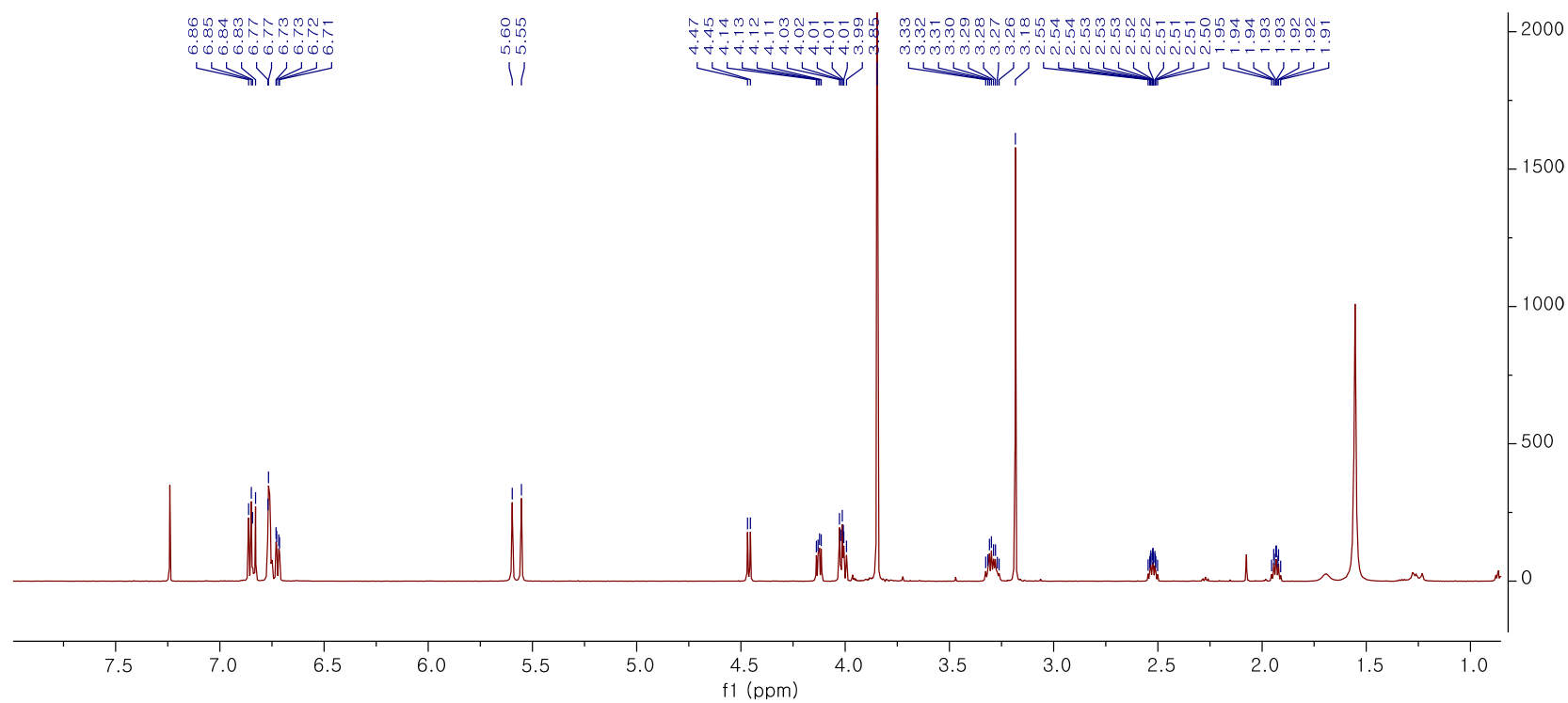


Figure 147. ¹H NMR spectrum of compound 11

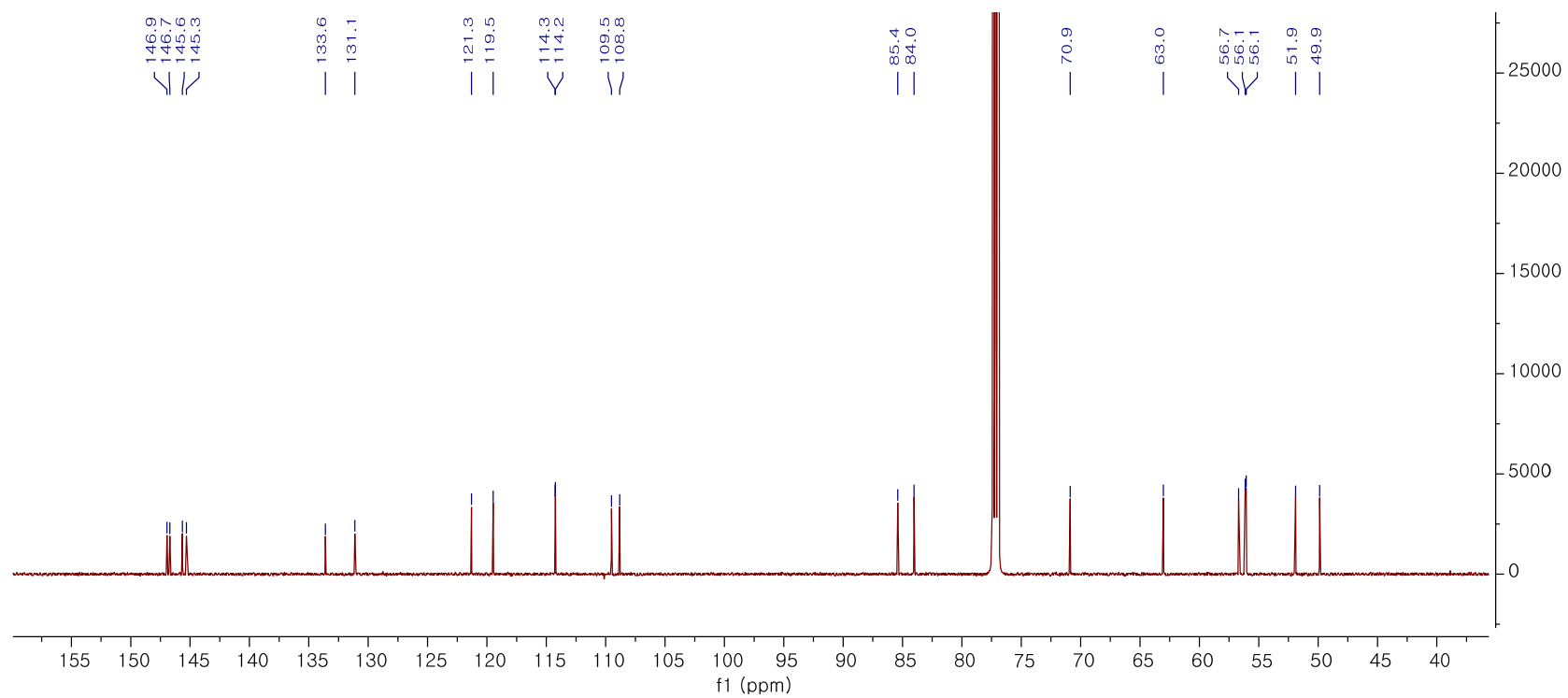


Figure 148. ^{13}C NMR spectrum of compound 11

3.1.12 화합물 12

화합물 12는 HRESIMS 측정을 통하여 positive mode 에서 m/z 413.1560 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{21}H_{26}O_6Na$, 413.1576)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{21}H_{26}O_7$ 로 확인하였다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.88 (d, $J = 8.0$ Hz), 6.86 (d, $J = 1.9$ Hz), 6.82 (dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz)], [δ_H 6.88 (d, $J = 7.9$ Hz), 6.81 (d, $J = 2.0$ Hz), 6.80 (dd, $J = 7.9, 1.9$ Hz)]과 두 개의 oxymethylene [δ_H 3.71 (m), 3.61 (m)], [δ_H 3.63 (m), 3.55 (m)], 두 개의 methine [δ_H 2.26 (dtd, $J = 11.4, 9.2, 8.4, 4.6$ Hz)], [δ_H 2.57 (tt, $J = 9.9, 9.9, 7.6, 7.6$ Hz)], 두 개의 oxymethine [δ_H 4.34 (d, $J = 9.2$ Hz)], [δ_H 3.92 (d, $J = 10.2$ Hz)], 세 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었으며, ^{13}C NMR 을 통하여 furan ring (δ_C 70.3, 63.8, 56.1, 52.9)의 존재를 알 수 있었다. 화합물 12의 절대구조는 NOESY spectrum 과 위에서 언급한 1H 와 ^{13}C NMR의 값들을 통하여 문헌치와 대조하여 결정하였으며, 이상의 결과로 7'*S**-methoxy-7-*epi*-lariciresinol으로 동정 할 수 있었다. (Dang et al., 2017)

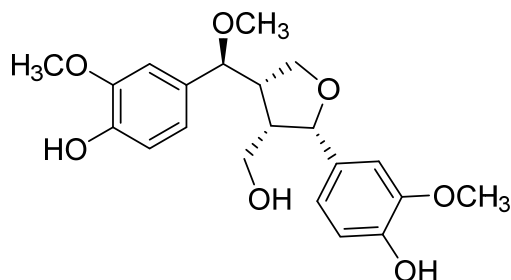


Figure 149. Chemical structure of compound 12

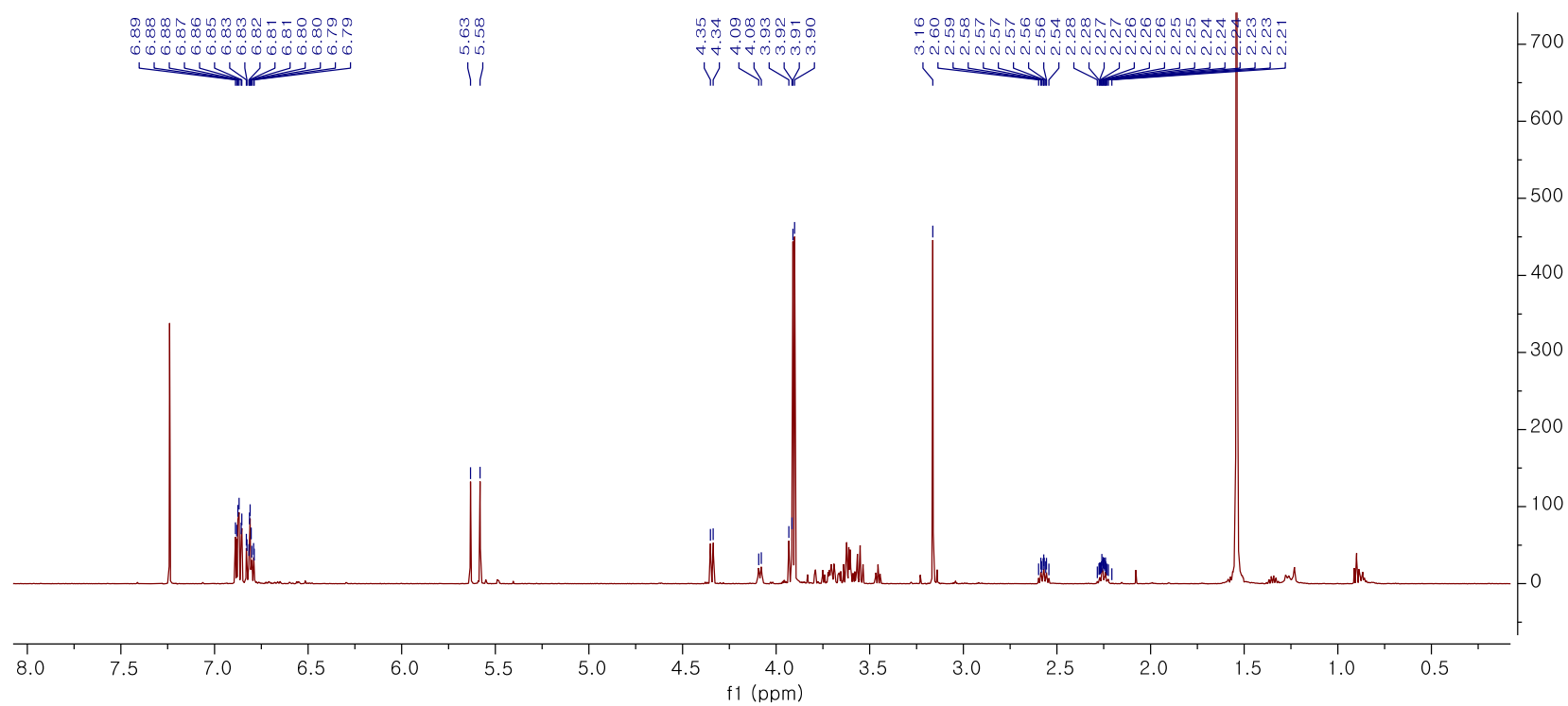


Figure 150. ¹H NMR spectrum of compound 12

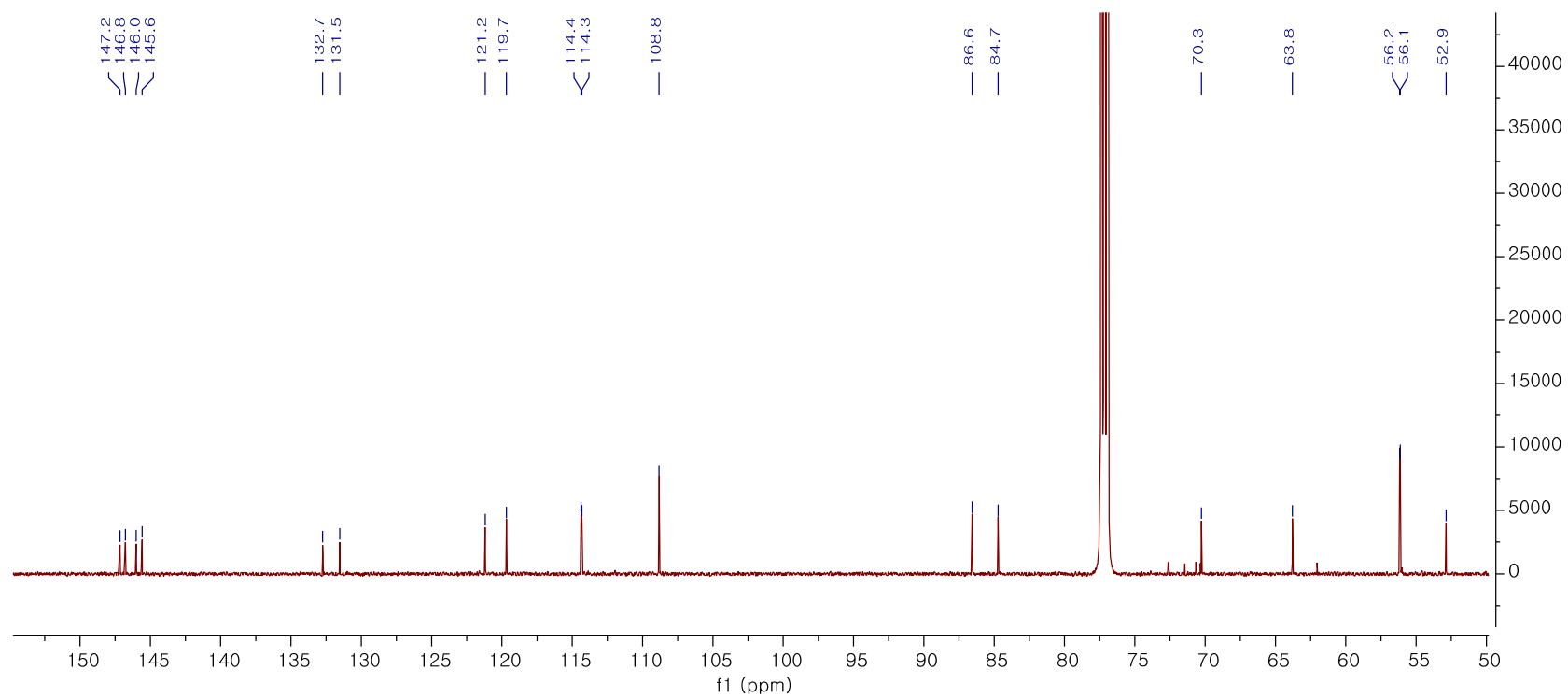


Figure 151. ^{13}C NMR spectrum of compound 12

3.1.13 화합물 13

화합물 **13**은 HRESIMS 측정을 통하여 positive mode 에서 m/z 543.1844 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{26}H_{32}O_{11}Na$, 543.1842) 의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{26}H_{32}O_{11}$ 로 확인하였다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.66 (d, $J = 8.1$ Hz), 6.62 (d, $J = 1.8$ Hz), 6.49 (dd, $J = 7.9, 1.8$ Hz)], δ_H 6.99 (d, $J = 8.4$ Hz), 6.78 (d, $J = 1.8$ Hz), 6.67 (dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz)]과 oxymethylene [δ_H 4.08 (dd, $J = 8.6, 7.0$ Hz), 3.86 (dd, $J = 8.8, 8.2$ Hz)], 두 개의 methine (용매에 가려짐)과 두 개의 methylene [δ_H 2.78 (m), 나머지 한 개는 용매에 가려짐], 두 개의 methoxy를 확인 할 수 있었으며, 한 개의 anomeric proton [δ_H 4.84 (d, $J = 7.3$ Hz)]를 통하여 하나의 당이 있음을 알 수 있었다. (Figure 153) ^{13}C NMR을 통해서도 carbonyl 탄소 (δ_C 178.4)의 존재를 알 수 있었다. (Figure 154) 위에서 언급한 1H 와 ^{13}C NMR의 값들을 통하여 화합물 **13**을 문헌치와 대조하여 matairesinoside로 동정할 수 있었다. 이 화합물의 절대구조는 ECD spectrum 을 통하여, 230, 277 nm 에서 negative Cotton effect를 확인하여 8*R*,8'*R* 로 결정하였다. (Figure 155) (Rhaman et al., 1990)

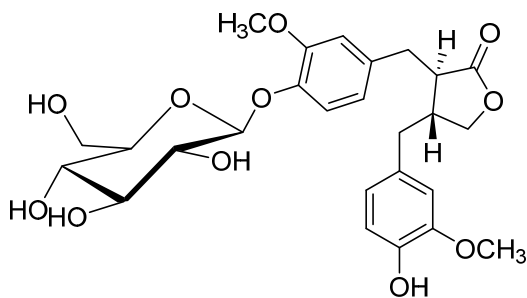


Figure 152. Chemical Structure of Compound 13

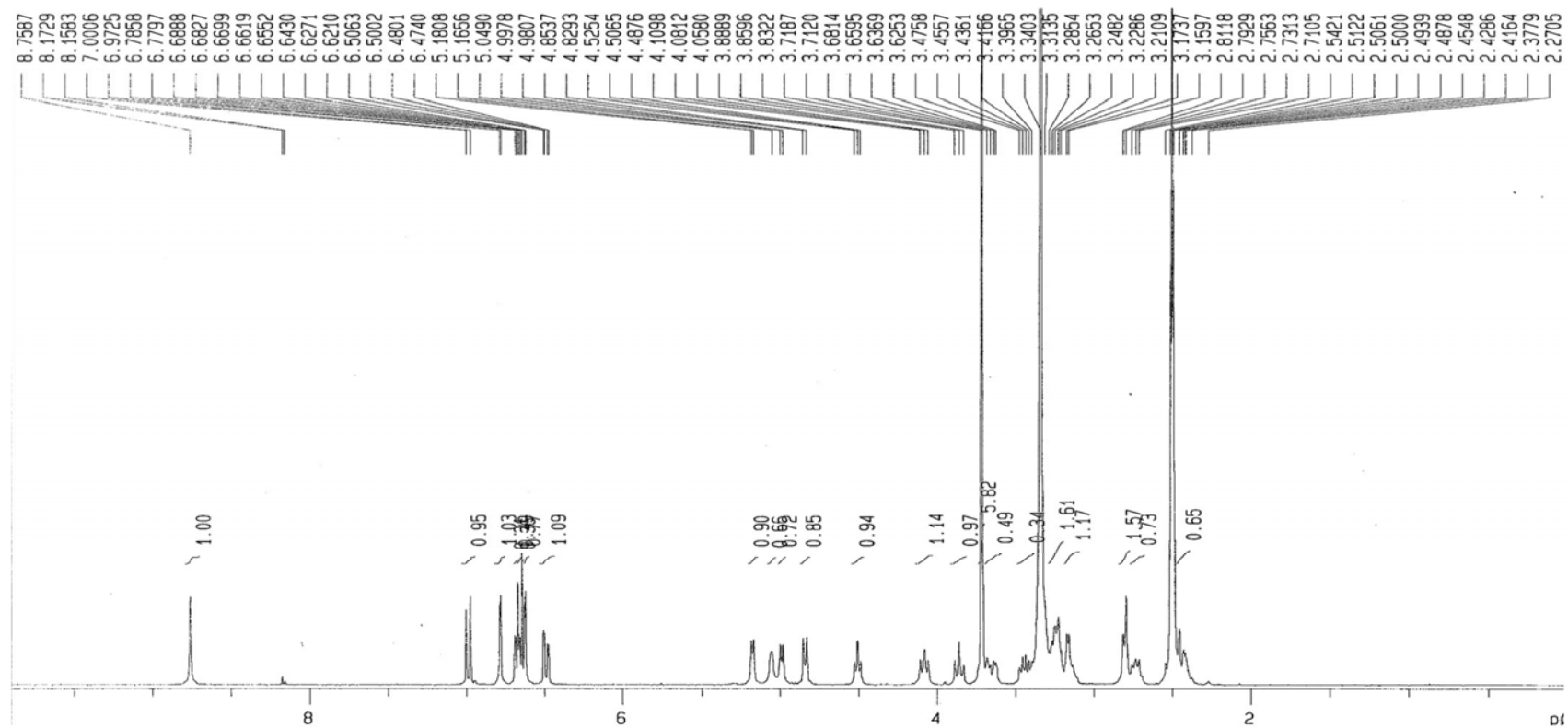


Figure 153. ^1H NMR spectrum of compound 13

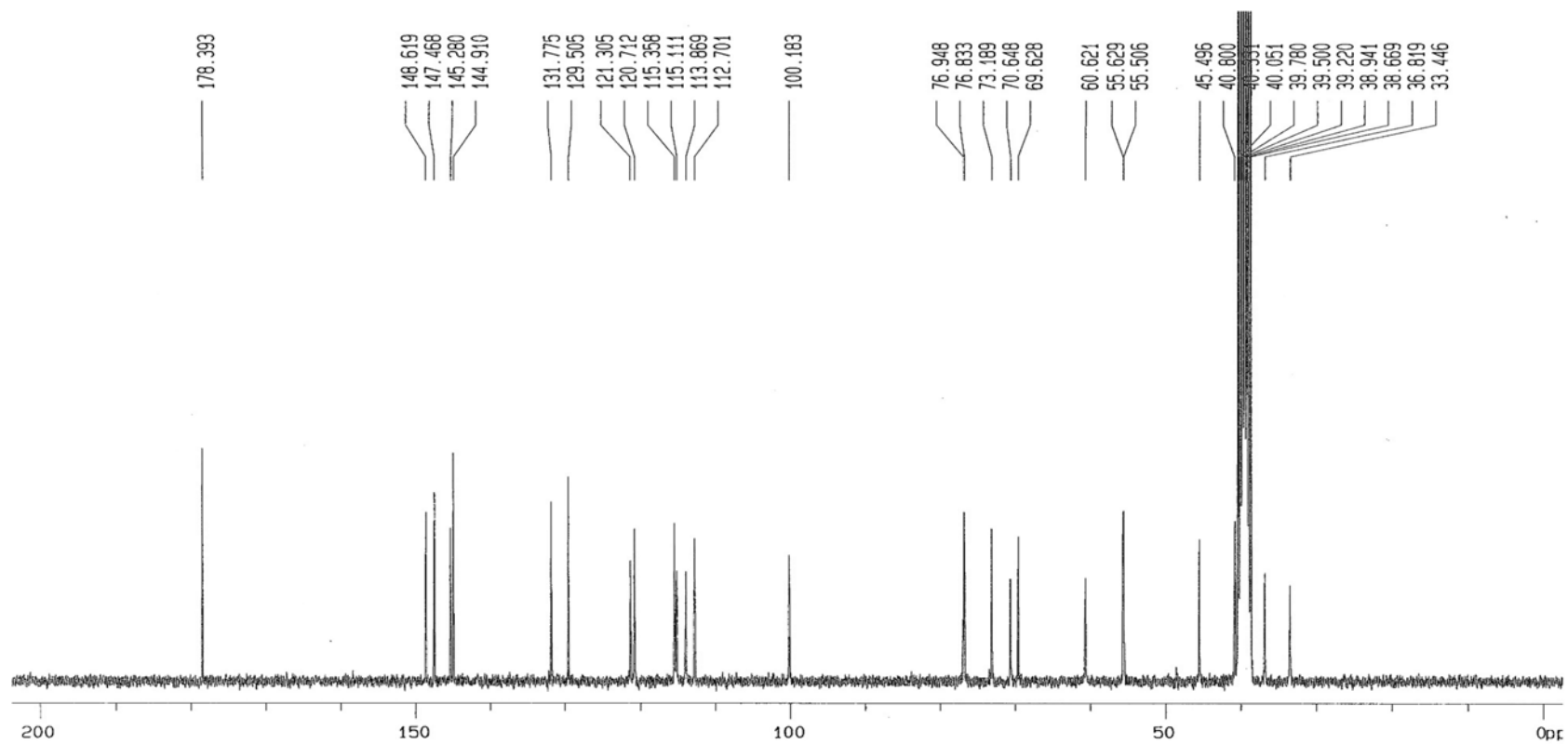


Figure 154. ^{13}C NMR spectrum of compound 13

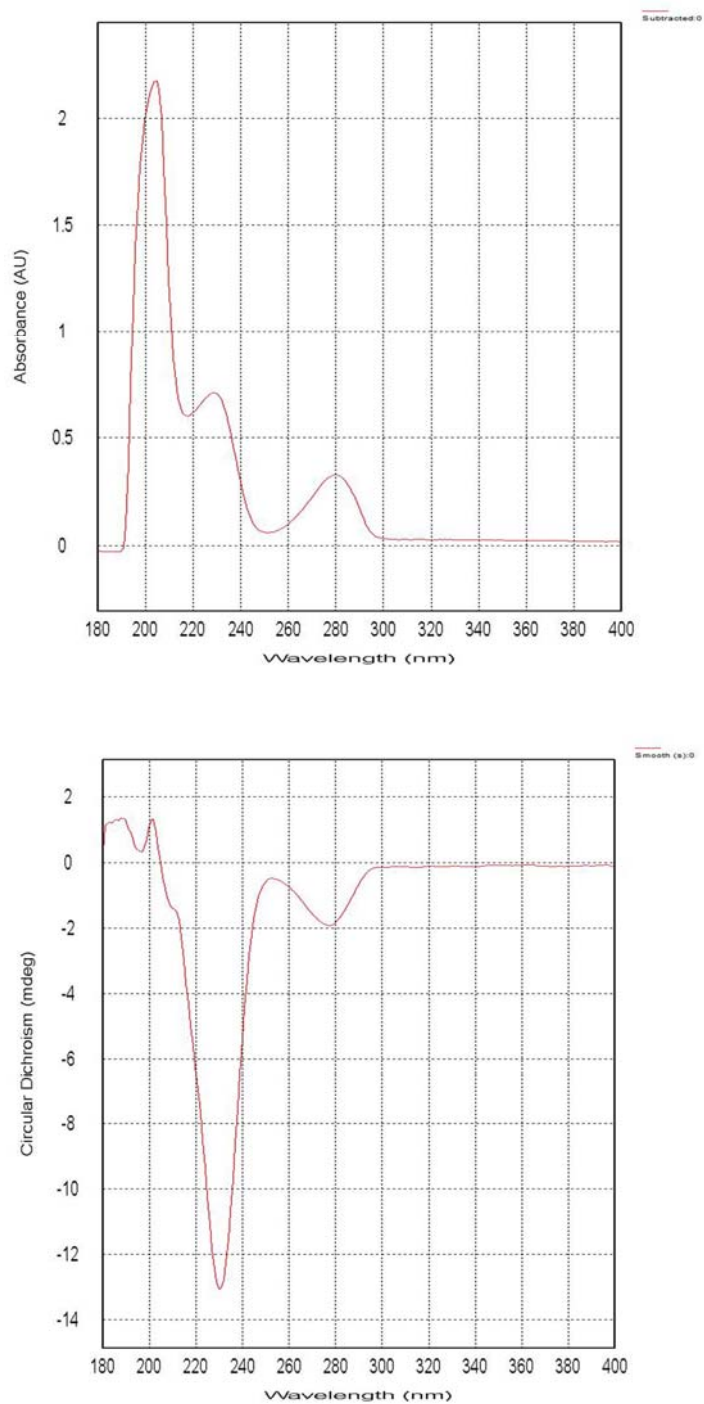


Figure 155. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 13

3.1.14 화합물 14

화합물 14는 HRESIMS 측정을 통하여 positive mode 에서 m/z 557.1990 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{27}H_{34}O_{11}Na$, 557.1999)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{27}H_{34}O_{11}$ 로 확인하였다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.83 (d, $J = 8.1$ Hz), 6.66 br s), 6.61 (dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz)], [δ_H 6.99 (d, $J = 8.4$ Hz), 6.79 (d, $J = 1.8$ Hz), 6.67 (dd, $J = 8.8, 1.8$ Hz)]과 oxymethylene [δ_H 4.09 (dd, $J = 8.8, 7.1$ Hz), 3.88 (dd, $J = 8.6, 8.2$ Hz)], 두 개의 methine (용매에 가려짐), 두 개의 methylene [δ_H 2.80 (m), 나머지 한 개는 용매에 가려짐], 세 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었으며, 한 개의 anomeric proton [δ_H 4.84 (d, $J = 7.3$ Hz)]를 통하여 하나의 당을 유추할 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 carbonyl 탄소 (δ_C 178.4)의 존재를 알 수 있었다. 위에서 언급한 1H 와 ^{13}C NMR의 값들을 통하여 화합물 14를 문헌치와 대조하여 arctiin으로 동정 할 수 있었다. 동정한 arctiin의 절대구조는 ECD spectrum 을 통하여, 231, 277 nm 에서 negative Cotton effect를 확인하여 8*R*,8'*R* 로 결정하였다. (Figure 159) (Rhaman et al., 1990)

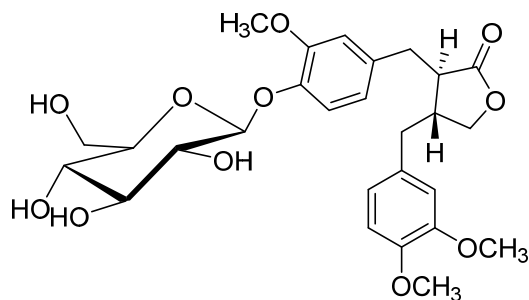


Figure 156. Chemical Structure of compound 14

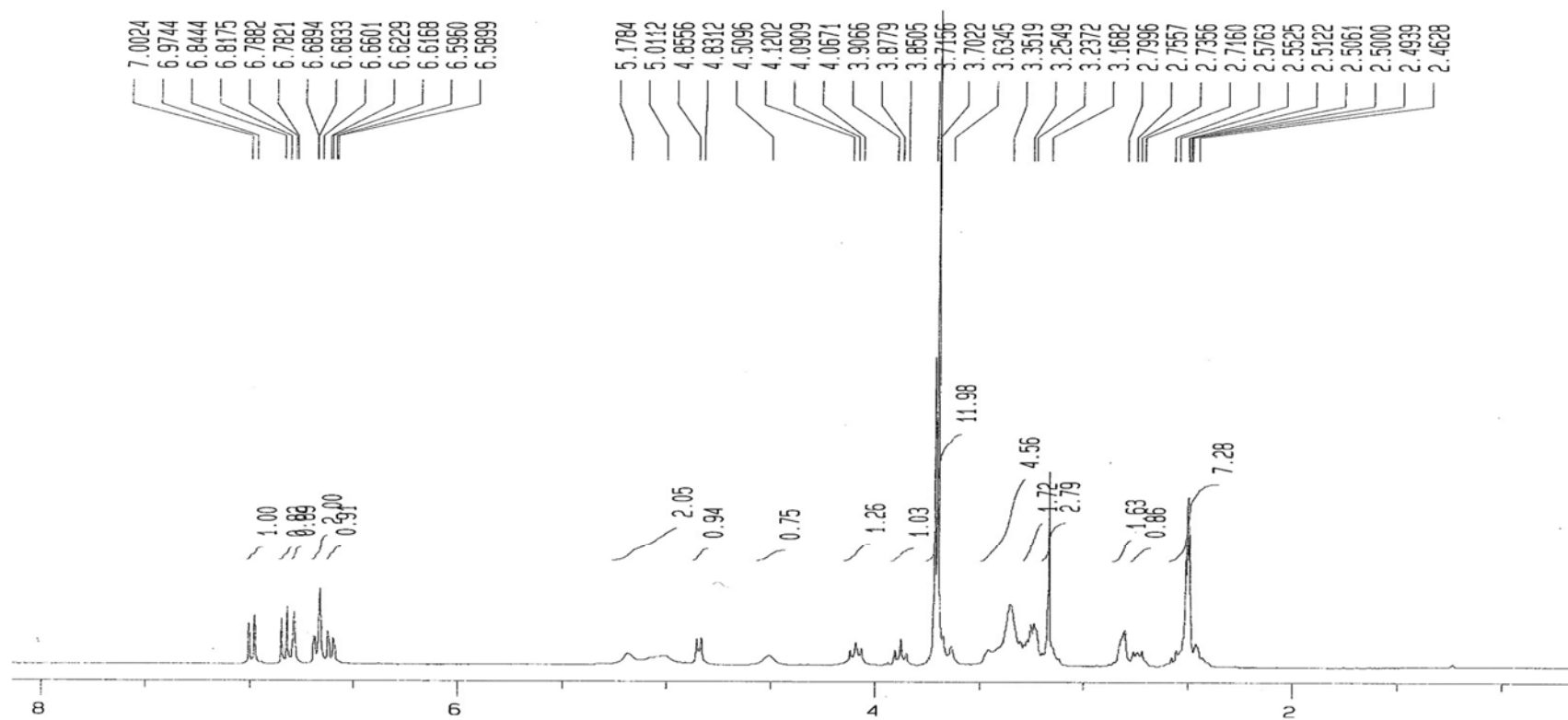


Figure 157. ^1H NMR spectrum of compound 14

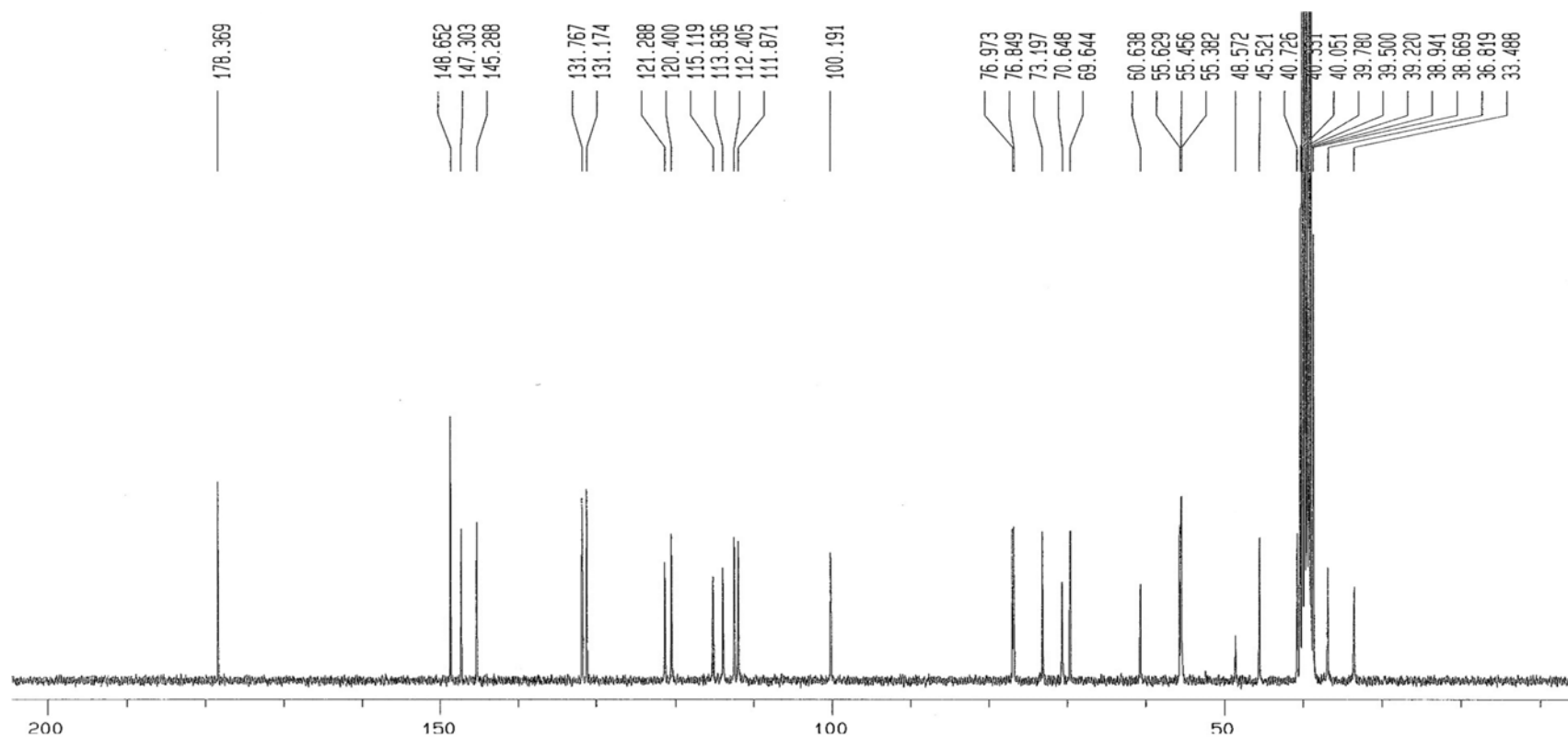


Figure 158. ^{13}C NMR spectrum of compound 14

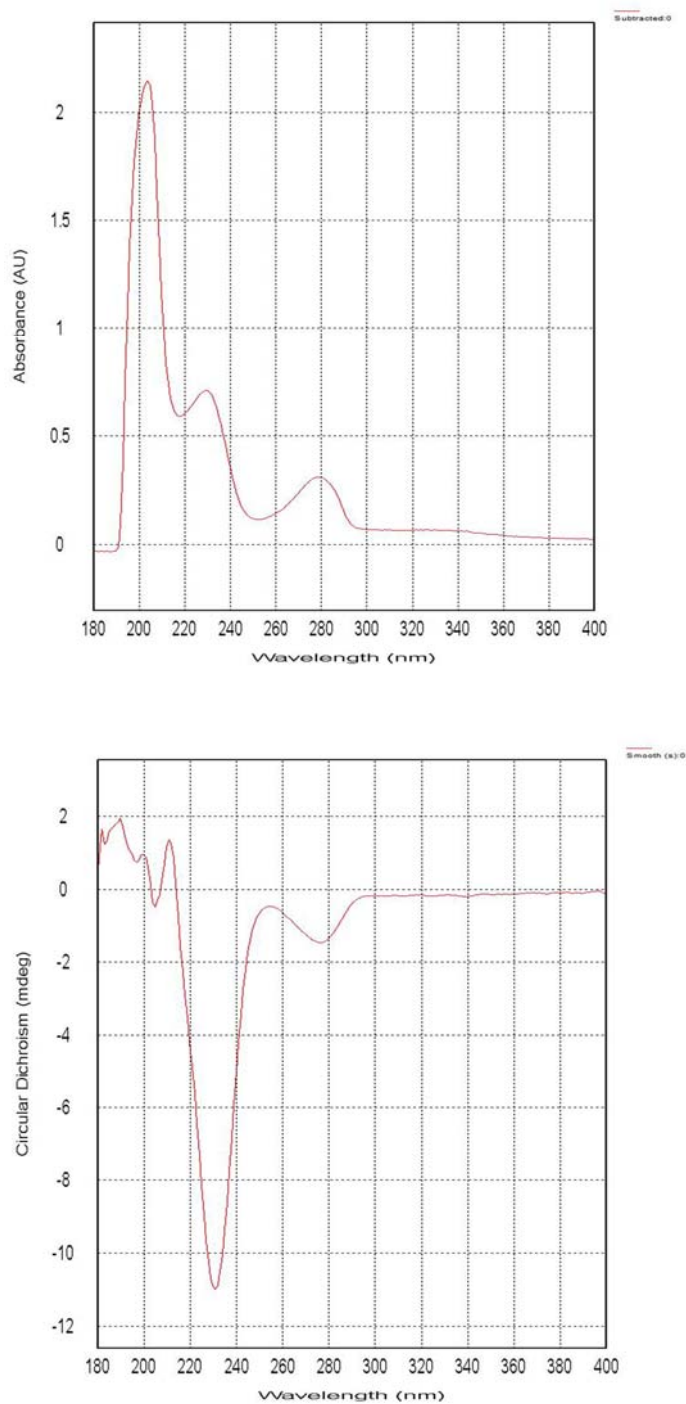


Figure 159. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 14

3.1.15 화합물 15

화합물 15는 HRESIMS 측정을 통하여 positive mode 에서 m/z 557.1996 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{27}H_{34}O_{11}Na$, 557.1999) 의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{27}H_{34}O_{11}$ 로 확인하였다. 1H NMR 에서 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.94 (d, $J = 1.9$ Hz), 6.78 (d, $J = 8.2, 1.9$ Hz), 6.74 (d, $J = 8.2$ Hz)] 와 1,3,4,5-사중치환된 aromatic ring [δ_H 7.05 (d, $J = 1.4$ Hz), 6.99 (d, $J = 1.5$ Hz)]과 두 개의 oxymethylene [δ_H 4.05 (dd, $J = 9.7, 6.2$ Hz), 3.66 (m)], [δ_H 4.00 (dd, $J = 6.2, 1.4$ Hz)], 한 개의 methine [δ_H 3.59 (m)]과 한 개의 oxymethine [δ_H 5.53 (d, $J = 6.3$ Hz), 두 개의 olefin [δ_H 6.52 (d, $J = 15.9$ Hz), 6.19 (dt, $J = 16.0, 6.0$ Hz)], 세 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었으며, 한 개의 anomeric proton [δ_H 4.25 (d, $J = 7.7$ Hz)]를 통하여 하나의 당이 있음을 알 수 있었으며, ^{13}C NMR을 통하여 aromatic ring 의 일부를 포함하는 furan ring (δ_C 147.3, 128.8, 87.1, 50.6)의 존재를 알 수 있었다. 위에서 언급한 1H 와 ^{13}C NMR의 값들을 통하여 화합물 15를 문헌치와 대조하여 plucheoside d3 로 동정 할 수 있었으며, 이 화합물의 7, 8번 위치의 절대구조는 ECD spectrum 을 통하여, 268, 288 nm 에서 negative Cotton effect를 확인하여 7*S*,8*R* 로 결정하였다. (Figure 163) (Uchiyama et al., 1991)

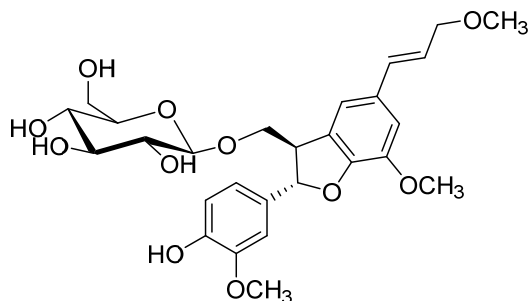


Figure 160. Chemical structure of compound 15

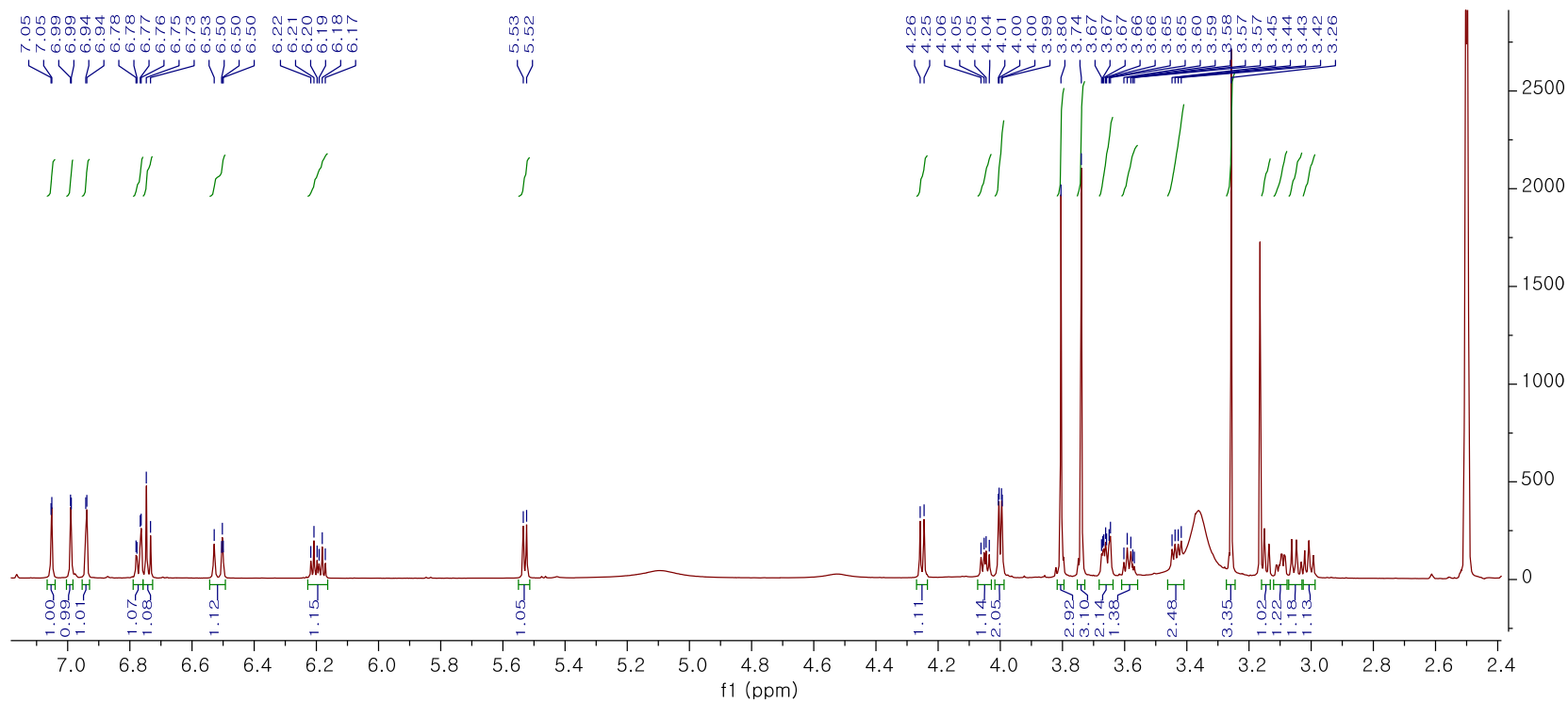


Figure 161. ^1H NMR spectrum of compound 15

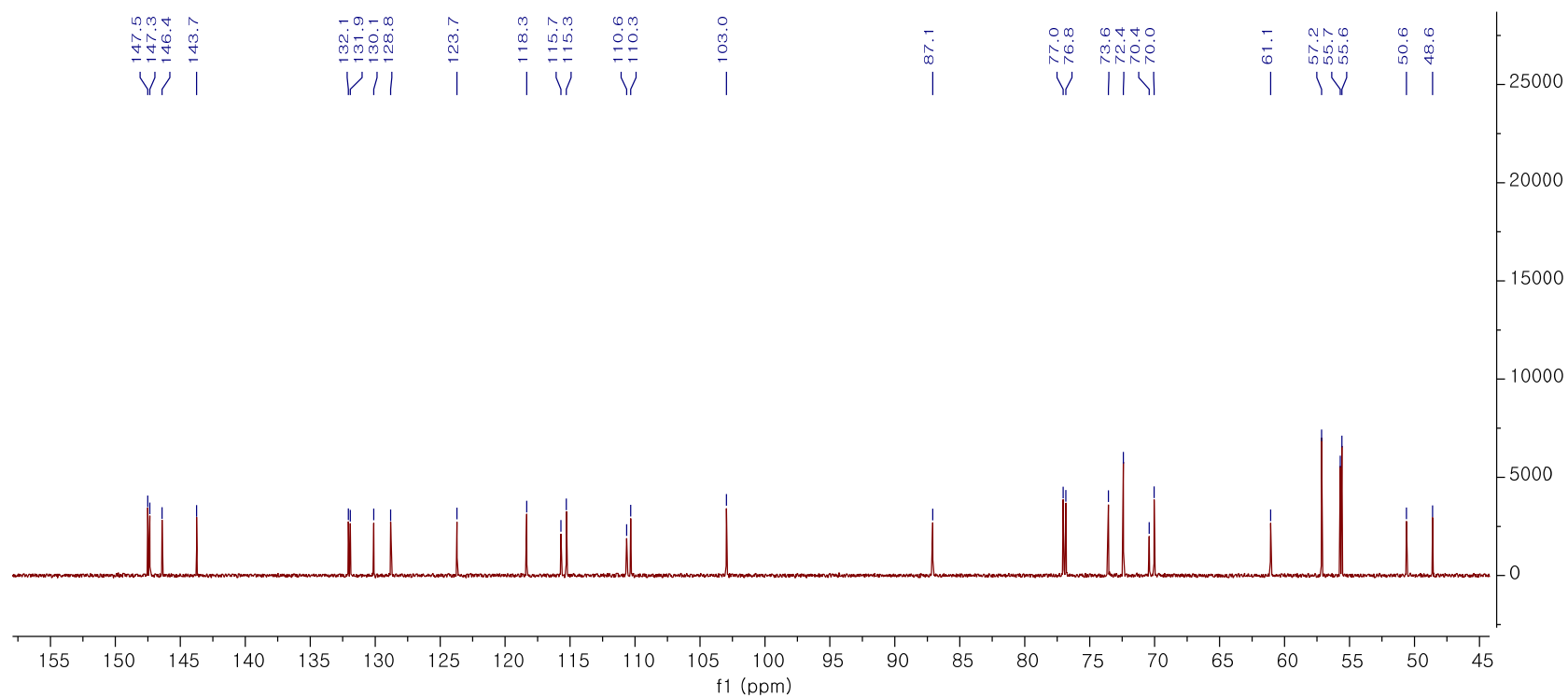


Figure 162. ^{13}C NMR spectrum of compound 15

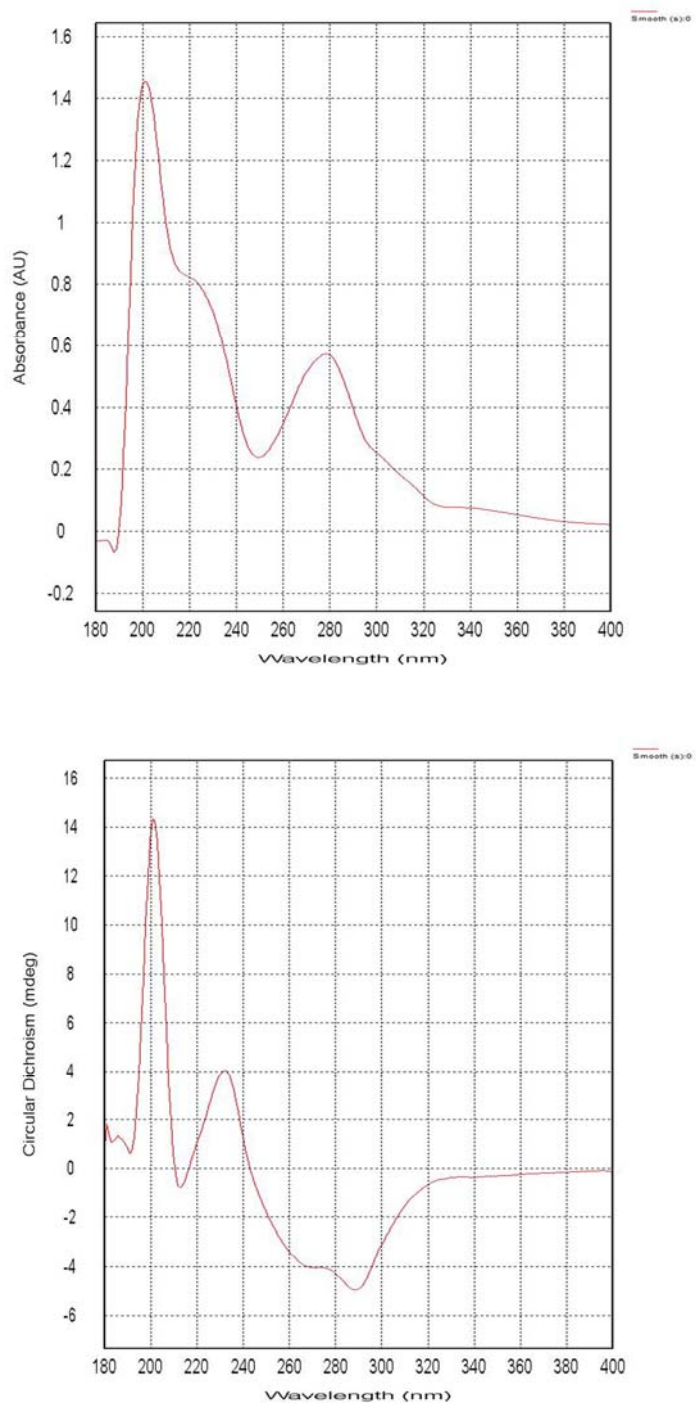


Figure 163. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 15

3.1.16 화합물 16

화합물 16는 HRESIMS 측정을 통하여 positive mode 에서 m/z 559.2153 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{27}H_{36}O_{11}Na$, 559.2155)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{27}H_{36}O_{11}$ 로 확인하였다. 1H NMR 에서 두 개의 1,3,4-삼중치환된 aromatic ring [δ_H 6.96 (d, $J = 8.3$ Hz), 6.73 (d, $J = 2.0$ Hz), 6.62 (m)], [δ_H 6.65 (d, 2.0 Hz), 6.63 (d, $J = 2.0$ Hz), 6.49 (dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz)]과 oxymethylene [δ_H 3.83 (t, $J = 7.9, 7.9$ Hz), 3.46 (m)], 두 개의 methylene [δ_H 2.54 (m), 2.40 (m)], [δ_H 2.47 (d, $J = 7.4$ Hz)], 두 개의 methine [δ_H 2.01 (m)], [δ_H 2.07 (dt, $J = 14.8, 7.6, 7.6$ Hz)]과 한 개의 oxymethine [δ_H 4.66 (d, $J = 1.9$ Hz)], 세 개의 methoxy 기를 확인 할 수 있었으며, 한 개의 anomeric proton [δ_H 4.84 (d, $J = 7.3$ Hz)]를 통하여 하나의 당이 있음을 알 수 있었다. ^{13}C NMR을 통하여 furan ring (δ_C 109.3, 71.2, 52.3, 46.0)의 존재를 알 수 있었다. 1H 와 ^{13}C NMR의 값들을 통하여 화합물 16의 aglycone 은 8*R*,9*S*,8'*R*-4,4'-dihydroxy-3,3',9-trimethoxy-9,9'-epoxylignan 구조임을 문헌치와 대조하여 동정할 수 있었으며, HMBC 를 통하여 당의 anomeric 수소 (δ_H 4.84) 와 4번 탄소 (δ_C 144.8)와의 상호작용을 확인하여 당의 결합위치를 확인 할 수 있었다. 이상의 결과를 토대로 화합물 16은 8*R*,9*S*,8'*R*-4,4'-dihydroxy-3,3',9-trimethoxy-9,9'-epoxylignan 4-O- β -D-glucoside 로 결정할 수 있었다. (Figure 167) (Chen et al., 2009)

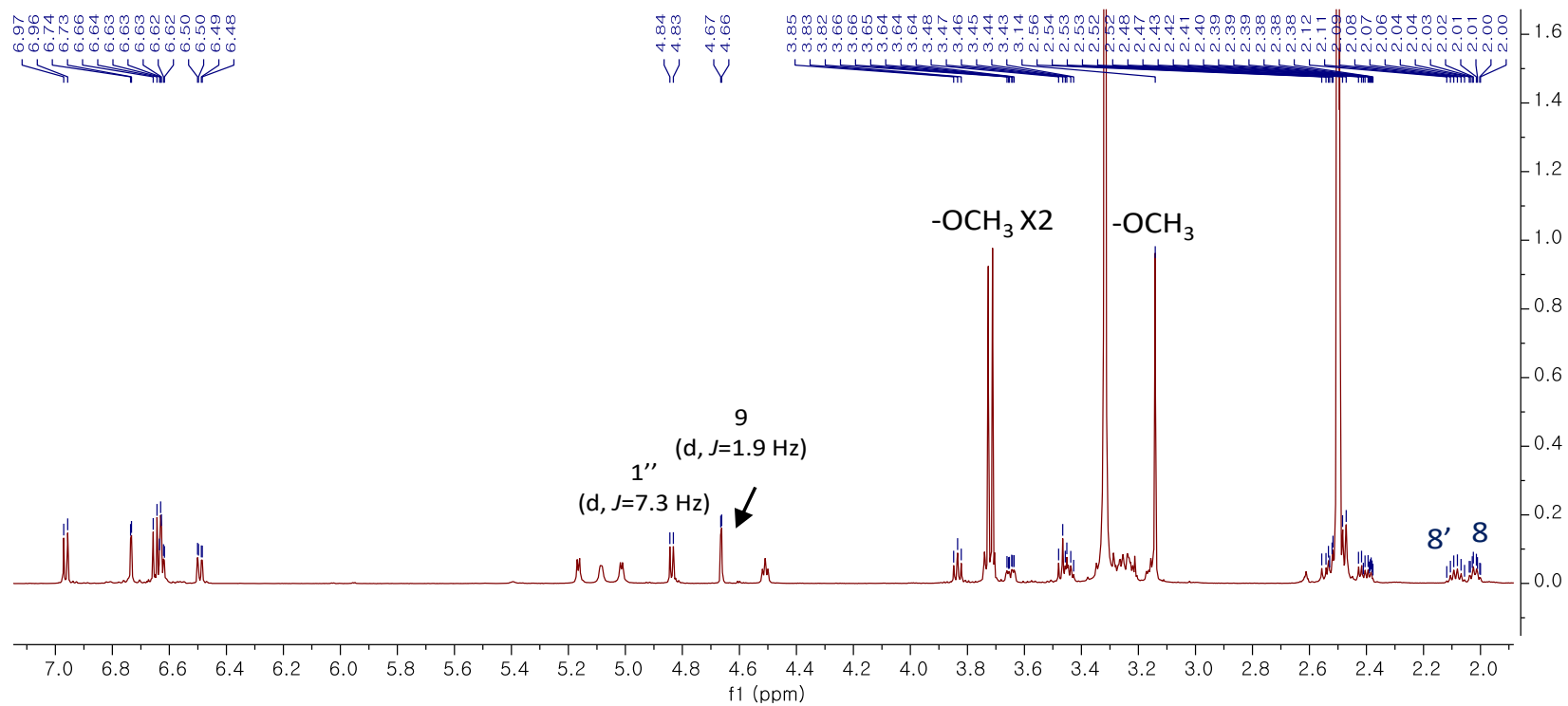


Figure 164. ¹H NMR spectrum of compound 16

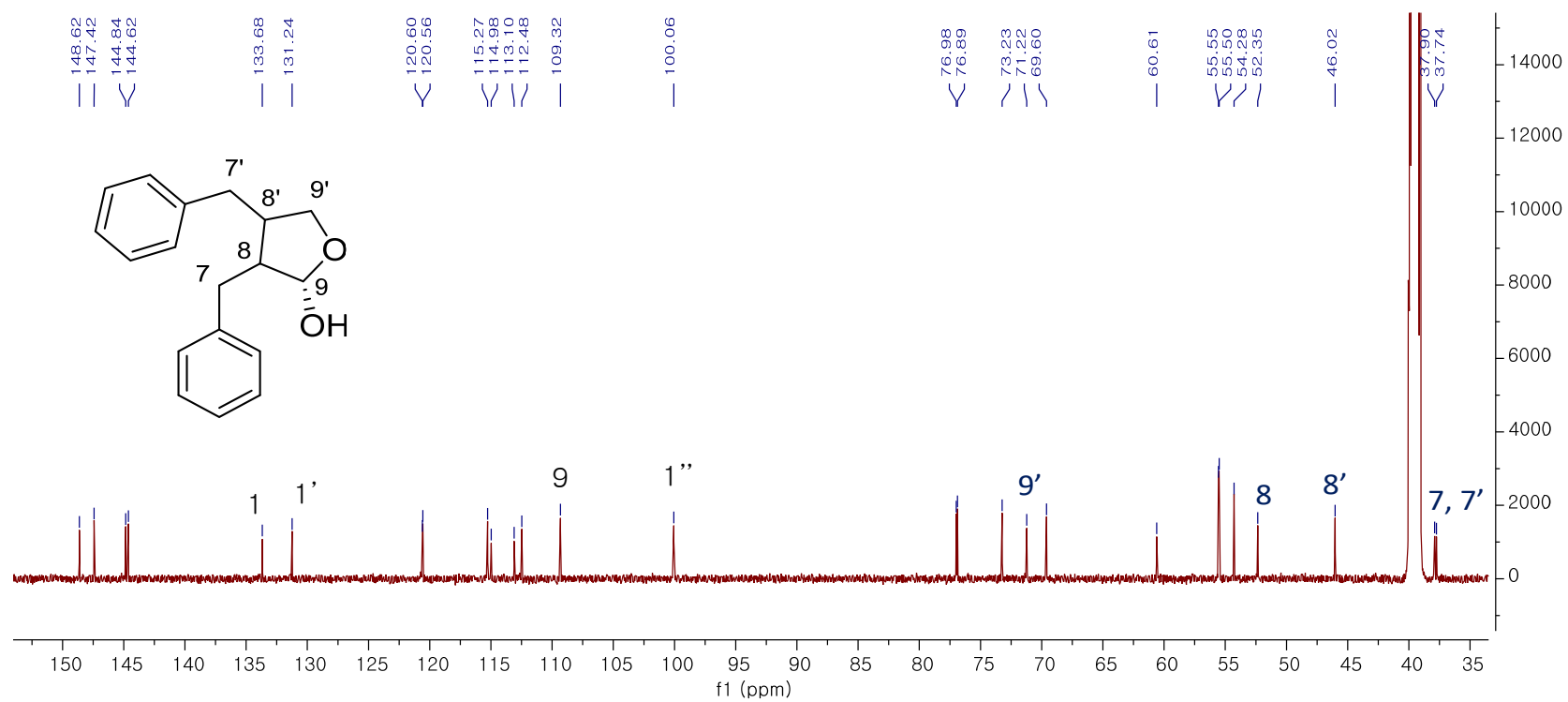


Figure 165. ¹³C NMR spectrum of compound 16

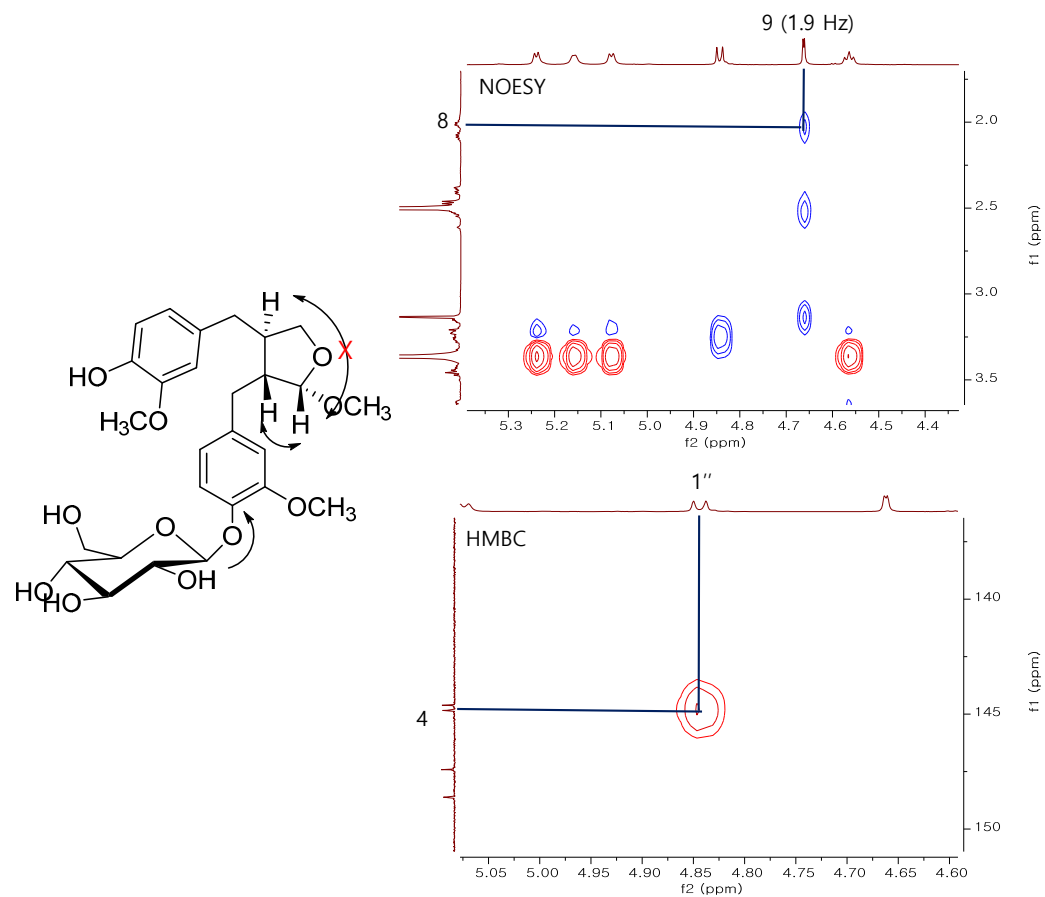


Figure 166. NOESY and HMBC spectrum of compound 16

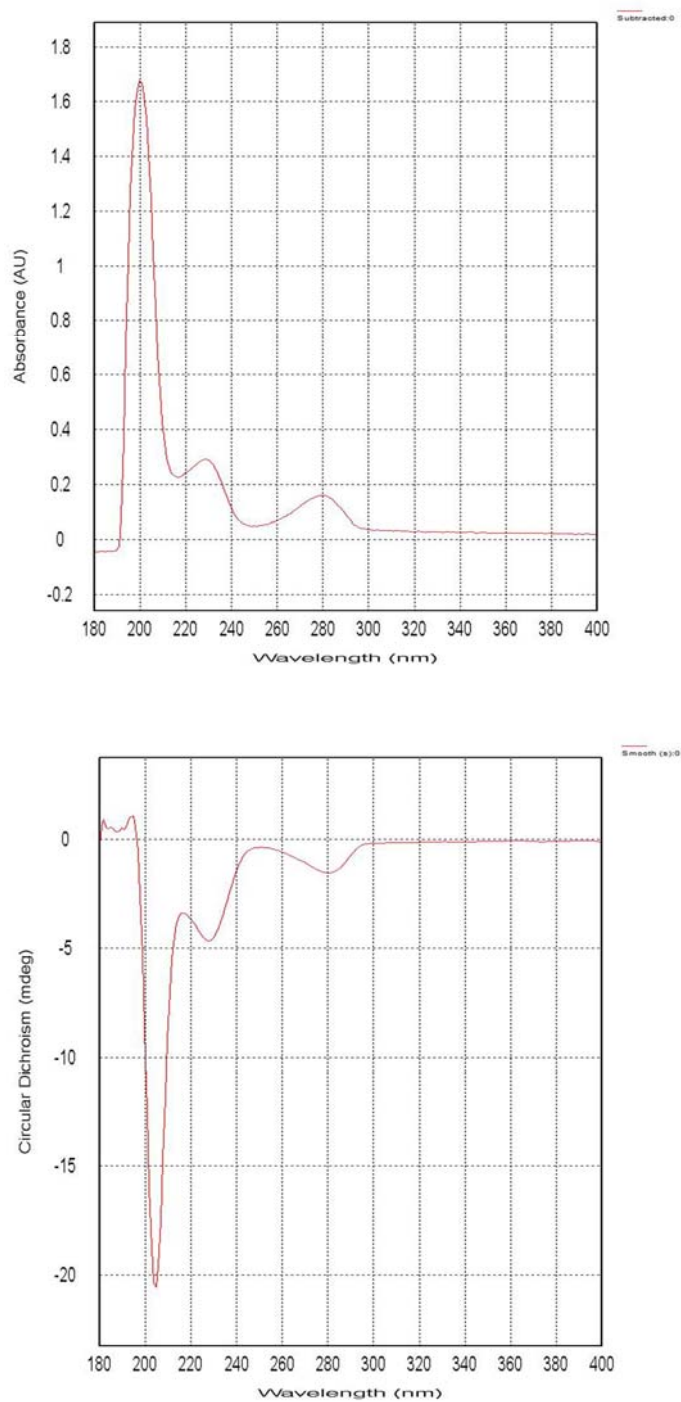


Figure 167. UV (above) and ECD (below) spectrum of compound 16

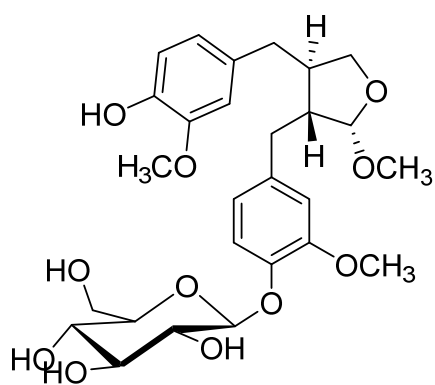
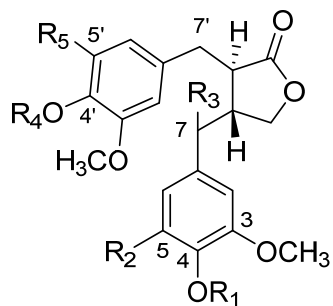
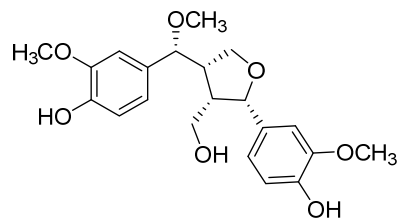


Figure 168. Chemical structure of compound 16

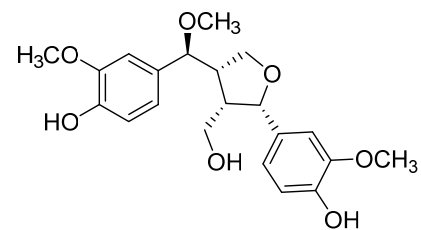


	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	
1	H	M (5)	H	H	H	
2	CH ₃	H	H	H	M (5')	
3	CH ₃	H	H	H	M (5)	
4	H	M (5)	OH	H	H	
5	H	M (5')	OH	H	H	
6	CH ₃	H	H	H	Δ ^{7'} A (5')	Diarctigenin
7	CH ₃	H	H	H	A (5')	Conicaol A
8	CH ₃	H	H	H	-O-A (4')	Matairesinol
9	H	H	H	H	H	Arctigenin
10	CH ₃	H	H	H	H	
13	H	H	H	Glc	H	Matairesinoside
14	CH ₃	H	H	Glc	H	Arctiin

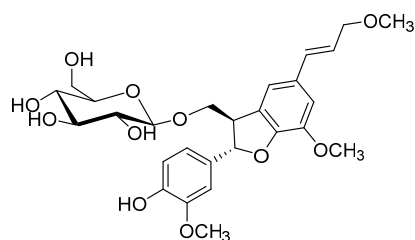
M: Matairesinol, A: Arctigenin, (): linkage position



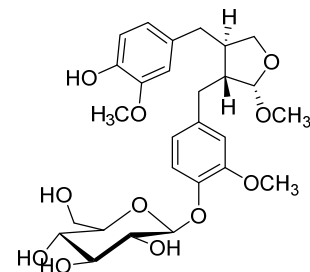
11



12



15



16

Figure 169. Chemical structures of isolated compounds from *F. viridissima* roots

3.2. 의성개나리에서 분리한 화합물들의 활성 평가

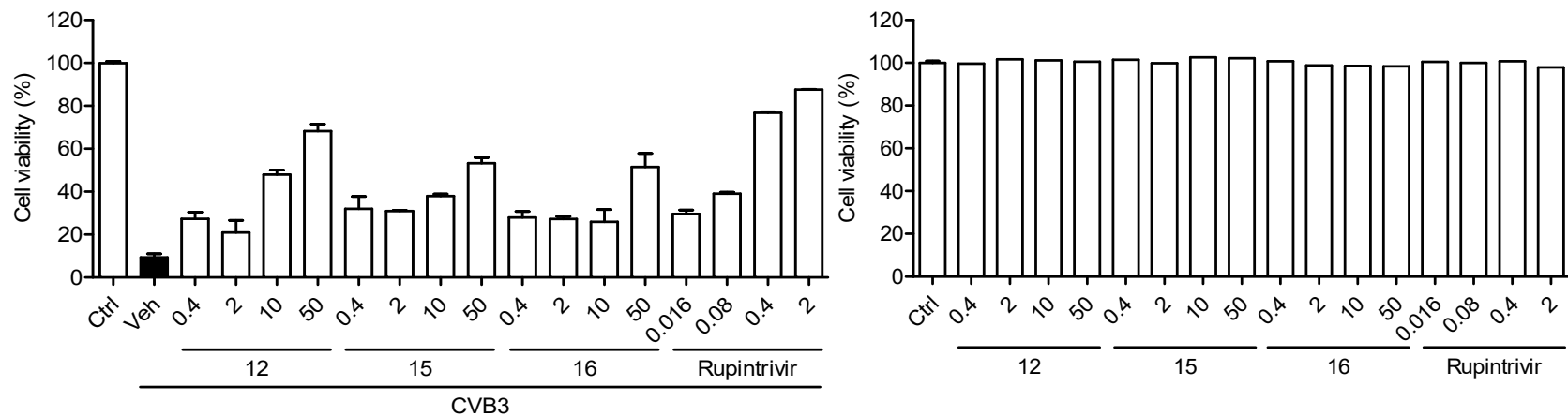


Figure 170. Antiviral activity (left) and cytotoxicity (right) of compounds 12, 15, and 16 against CVB3 virus

의성개나리에서 분리한 화합물 16종을 장내바이러스인 CVB3 및 HRV1B 바이러스에 대하여 항바이러스활성을 평가하였다. 화합물 12, 15, 16 은 CVB3 바이러스에 효과를 나타내었으며, (Figure 170) 화합물 2 는 HRV1B 바이러스에 대하여 항바이러스활성을 나타냈다. (Figure 171)

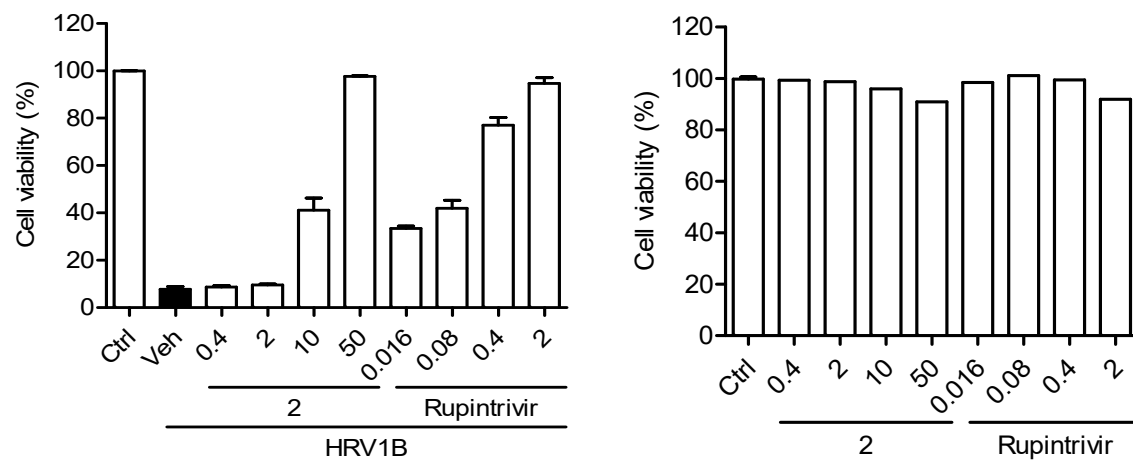


Figure 171. Antiviral activity (left) and cytotoxicity (right) of compound 2 against HRV1B virus

제 4장 결 론

1. 의성개나리에서 확인되는 lignan 의 계열은 dibenzylbutyrolactone 계열의 lignan 들이며, arctigenin, matairesinol 과 그 배당체 이외에는 찾아보기 힘들었으며, 연구가 많이 보고된 당개나리에 비하여 lignan 의 화학적 다양성이 떨어지는 것을 확인하였고, 의성개나리에서 보다 다양한 dibenzylbutyrolactone 계열의 lignan 을 확보하기 위하여 각 부위별 MS 크로마토그램을 측정하였다.
2. 뿌리에서 dilignan의 분자량으로 추정되는 물질 피크를 확인하였으며, 이를 분명히 확인하기 위하여 뿌리 추출물을 극성에 따라 *n*-hexane, CH₂Cl₂, *n*-BuOH, 물로 분획한 후, 다시 MS 크로마토그램을 측정하여, 뿌리 추출물의 CH₂Cl₂ 분획에서 dilignan 추정 물질이 존재함을 확인하였다.
3. 각종 크로마토그래피 법을 통하여 총 16종의 화합물을 의성개나리 뿌리의 80% MeOH 추출물의 CH₂Cl₂, *n*-BuOH 분획에서 분리하였다. 8종의 dilignan, 4종의 lignan, 4종의 lignan 배당체를 분리하였으며, 이중에서 dilignan 6종, lignan 배당체 1종은 천연에서 처음 분리 및 보고하는 물질이다.
4. 분리한 화합물들을 장내세균 바이러스인 CVB3 와 HRV1B 에 대하여 활성을 평가하였을 때, 화합물 12, 15, 16 은 CVB3 바이러스에 대하여 활성을 나타냈으며, 화합물 2는 HRV1B 바이러스에서 활성을 나타내었다.

Part 3. 참고 문헌

2016국가생물종목록, (2016), 환경부 국립생물자원관

국립수목원 (2016) 국립수목원 전시원 식물 안내서; 양치식물원-식물 식별 길잡이 II (<http://www.kna.go.kr>)

대한민국약전 제 11개정

Askari A., Worthen L. R., Shimizu Y., 1972. Gaylussacin, a new stilbene derivative from species of Gaylussacia. *Lloydia* 35, 49-54

Ayres D. C., Loike J. D., 1990. *Lignans: chemical, biological and clinical properties*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, pp. 195-253.

Basnet P., Kadota S., Shimizu M., Xu H. X., Namba T., 1993. 2'-hydroxymatteucinol, a new C-methyl flavanone derivative from *Matteuccia orientalis*; potent hypoglycemic activity in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat. *Chem Pharm Bull* 41, 1790-1795

Basnet P., Kadota S., Hase K., Namba T., 1995. Five new C-methyl flavonoids, the potent aldose reductase inhibitors form *Matteuccia orientalis* Trev.. *Chem Pharm Bull* 43, 1558-1564

Bayley P., 1980. *An Introduction to spectroscopy for biochemists*, ed. Brown, S. P. London: Acad. Press, pp. 148-234

Berget B. J., Baker F. C., Lee E., Schooley D. A., 1979. Absolute configuration of homomevalonate and 3-hydroxy-3-ethylglutaryl- and 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA, produced by cell-free extracts of insect corpora allata; cautionary note on prediction of absolute stereochemistry based on liquid chromatographic elution order of diastereomeric derivatives. *J Am Chem Soc* 101, 7432-7434

Bohm B. A., 1998. *Introduction to flavonoids*, Amsterdam: Harwood Academic Publishers, pp 26–32

Chang M. J., Hung T. M., Min B. S., Kim J. C., Mi H. W., Choi J. S., Lee H. K., Bae K., 2008. Lignans from the fruits of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl. protect high-density lipoprotein during oxidative Stress. *Biosci Biolchem* 72, 2750–2755

Chen X. Q., Li Y., He J., Wang K., Li M. M., Pan Z. H., Peng L. Y., Cheng X., Zhao Q. S., 2009. Four new lignans from *Viburnum foetidum* var. *foetidum*. *Chem Pharm Bull* 57, 1129–1131

Cheng G. D., Zhao Y. L., Li H., Wu Y., Li. X. X., Han Q., Dai C. S., Li Y. H., 2014. Forsythiaside attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in the bursa of fabricius of chickens by downregulating the NF- κ B signaling pathway. *Exp Ther Med* 7, 179–184

Chyu C. F., Kuo Y. H., 2007. New lignans from the roots of *Taiwania cryptomerioides* Hayata. *Helv Chim Acta* 90, 738–747

Colegate S. M., Gardner D. R., Davis T. Z., Betz J. M., Panter K. E., 2013. Dehydropyrrolizidine alkaloids in two Cryptantha species: including two new open chain diesters one of which is amphoteric. *Phytochem Anal* 24, 201–212

Dang P. H., Nguyen H. X., Nguyen H. H. T., Vo T. D., Le T. H., Phan T. H. N., Nguyen M. T. T., Nguyen N. T., 2017. Lignans from the roots of *Taxus wallichiana* and their α -glucosidase inhibitory activities. *J Nat Prod* 80, 1876–1882

Dao T. T., Tung B. T., Nguyen P. H., Thoung P. T., Yoo S. S., Kim E. H., Kim S. K., Oh W. K., 2010. C-Methylated flavonoids from

Cleistocalys operculatus and their inhibitory effects on novel influenza A (H1N1) neuraminidase. *J Nat Prod* 73, 1636–1642

Dewick P. M., 2009. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach, 3rd ed.* West Sussex: John Wiley & Sons, pp 187–192

Deng L., Pang P., Zheng K., Nie J., Xu H. C., Wu S. Z., Chen J., Chen X. Y., 2016. Forsythoside A controls influenza A virus infection and improves the prognosis by inhibiting virus replication in mice. *Molecules* 21, E524

Dong Z., Lu X., Tong X., Dong Y., Tang L., Liu M., 2017. *Forsythiae fructus*: a review on its phytochemistry, quality control, pharmacology and pharmacokinetics. *Molecules* 22, E1466

Eom H. J., Lee D., Noh H. J., Hyun J. W., Yi P. H., Kang K. S., Kim K. H., 2016. Flavonoids and a limonoid from the fruits of *Citrus unshiu* and their biological activity. *J Agric Food Chem* 64, 7171–7178

Fan C. Q., Zhu X. Z., Zhan Z. J., Ji X. Q., Li H., Yue J. M., 2006. Lignans from *Saussurea conica* and their NO production suppressing activity. *Planta Med* 72, 590–595

Feng W. S., Cao X. W., Zheng X. K., Kuang H. X., 2005. A new flavanone from *Dryopteris sublaeta*. *Acta Pharm Sin* 40, 443–446

Ha T. K. Q., Dao T. T., Nguyen N. H., Kim J., Kim E., Cho T. O., Oh W. K., 2016. Antiviral phenolics from the leaves of *Cleistocalyx operculatus*. *Fitoterapia* 10, 135–141

Han B. H., Kang Y.H., Yang H. O., Park M. K., 1994. A butyrolactone lignan dimer from *Arctium lappa*. *Phytochemistry* 37, 1161–1163

Hattori Y., Horikawa K. H., Makabe H., Hirai N., Hirota M., Kamo T., 2007. A refined method for determining the absolute configuration of

the 3-hydroxy-3-methylglutaryl group. *Tetrahedron: Asymmetry* 18, 1183–1186

Hirai N., Koshimizu K., 1981. Chirality of the acyl group of β -hydroxy- β -methylglutaryl hydroxyabscisic acid. *Phytochemistry* 20, 1867–1869

Jia B. X., Zeng X. L., Ren F. X., Jia L., Chen X. Q., Yang J., Liu H. M., Wang Q., 2014. Baeckeins F–I, four novel C-methylated bioflavonoids from the roots of *Baeckea frutescens* and their anti-inflammatory activities. *Food Chem* 155, 31–37

Jiang J., Zhou R., Meng Z., Li N., 1994. A new flavanone from *Matteuccia orientalis*, *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao* 25, 199–201

Jung K. Y., Do J. C., Son K. H., 1993. Kaempferol 3-O-[6''-O-(3-hydroxy-3-methylglutaroyl)-glucoside] from leaves of *Polygala japonica*. *Phytochemistry* 34, 1196–1197

Kadota S., Basnet P., Hase K., Namba T., 1994. Matteuorientate A and B, two new and potent aldose reductase inhibitors from *Matteuccia orientalis* (Hook.) Trev.. *Chem Pharm Bull* 42, 1712–1714

Kaihatsu, K., Kawakami C., Kato N., 2014. Potential anti-influenza virus agents based on coffee ingredients and natural flavonols. *Nat Prod Chem Res* 2, 2–9

Kamo T., Asanoma M., Shibata H., Hirota M., 2003. Anti-inflammatory lanostane-type triterpene acids from *Piptoporus betulinus*. *J Nat Prod* 66, 1104–1106

Kamo T., Hirai N., Matsumoto C., Ohigashi H., Hirota M., 2004. Revised chirality of the acyl group of 8'-O-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)-8'-hydroxyabscisic acid. *Phytochemistry* 65, 2517–2520

- Kang H. S., Lee J. Y., Kim C. J., 2008. Anti-inflammatory activity of arctigenin from *Forsythiae fructus*. *J Ethnopharmacol* 116, 305–312
- Lee J. Y., Moon H., Kim C. J., 2010. Effects of hydroxy pentacyclic triterpene acids from *Forsythia viridissima* on asthmatic responses to ovalbumin challenge in conscious guinea pigs. *Biol Pharm Bull* 33, 230–237
- Lee J. H., Lee J. Y., Kim T. D., Kim C. J., 2011. Antiasthmatic action of dibenzylbutyrolactone lignans from fruits of *Forsythia viridissima* on asthmatic responses to ovalbumin challenge in conscious guinea-pigs. *Phytother Res* 25, 387–395
- Lee S., Shin S., Kim H., Han S., Kim K., Kwon J., Kwak J. H., Lee C. K., Ha N. J., Yim D., Kim K., 2011. Anti-inflammatory function of arctiin by inhibiting COX-2 expression via NF- κ B pathways. *J Inflamm* 8, 1–9
- Li X. C., Jacob M. R., Pasco D. S., Elsohly H. N., Nimrod A. C., Wlaker L. A., Clark A. M., 2001. Phenolic compounds from *Miconia myriantha* inhibiting *Candida* aspartic proteases. *J Nat Prod* 64, 1282–1285
- Li B., Zhu L. J., Wu F. B., Yan F., Zhang X., Yao X. S., 2015. Flavonoids from *Matteuccia struthiopteris* and their anti-influenza virus (H1N1) activity. *J Nat Prod* 78, 987–995
- Malikov V. M., Yuldashev M. P., 2002. Phenolic compounds of plants of the *Scutellaria* genus, distribution, structure, and properties. *Chem Nat Compd* 38, 473–519
- Marco J. A., Sanz-Cervera J. F., Garcia-Lliso V., Susanna A., Garcia-Jacas N., 1994. Sesquiterpene lactones, lignans and aromatic esters from *Cheirolophus* species. *Phytochemistry* 37, 1101–1107

Markham K. R., Geiger H. 1994. *The flavonoids: advances in research since 1986*, ed. Harborne, J. B. London: Chapman & Hall, pp 441–497

Massaro C. F., Katouli M., Grkovic T., Vu H., Quinn R. J., Heard T. A., Carvalho C., Manley–Harris M., Wallace H. M., Brooks P., 2014. Anti–staphylococcal activity of C–methyl flavanones from propolis of Australian stingless bees (*Tetragonula carbonaria*) and fruit resins of *Corymbia torelliana* (Myrtaceae). *Fitoterapia* 95, 247–257

Mohri K., Takemoto T., Kondo Y., 1987. Studies on the constituents of *Matteuccia orientalis* Trev. structures of two new flavanones, matteucin and methoxymatteucin. *Yakugaku Zasshi* 102, 310–312

Nguyen, T. N. A., Dao T. T., Tung B. T., Choi H., Kim E., Park J., 2011. Influenza A (H1N1) neuraminidase inhibitors from *Vitis amurensis*. *Food Chem* 124, 437–443

Pan C. W., Zhou G. Y., Chen W. L., Zhuge L., Jin L. X., Zheng Y., Lin W., Pan Z. Z., 2015. Protective effect of forsythiaside A on lipopolysaccharide/D–galactosamine–induced liver injury. *Int Immunopharmacol* 26, 80–85

Porter E. A., van den Bos A. A. Kite G. C., Veitch N. C., Simmonds M. S. J., 2012. Flavonol glycosides acylated with 3–hydroxy–3–methylglutaric acid as systematic characters in *Rosa*. *Phytochemistry* 81, 90–96

Qu X. Y., Li Q. J., Zhang H. M., Zhang X. J., Shi P. H., Zhang X. J., Yang J., Zhou Z., Wang S. Q., 2016. Protective effects of phillyrin against influenza A virus in vivo. *Arch Pharm Res* 39, 998–1005

Rahman M. M. A., Dewick P. M., Jackson D. E., Lucas J. A., 1990. Lignans of *Forsythia intermedia*. *Phytochemistry* 29, 1971–1980

Shao P., Zhang X., Li C., Song Y., Wang N. L., Yao X. S., 2011.

Chemical constituents from rhizome of *Matteuccia orientalis*. *Chin Tradit Herbal Drugs* 42, 1481–1484

Su W., Xu H. F., Huang H., 2010. Effects of the extract of *Forsythia suspensa* on influenza A H1N1 infection in vitro. *J Med Plants Res* 4, 1455–1458

Sugiyama S., Umehara K., Kuroyanagi M., Ueno A., Taki T., 1993. Studies on the differentiation inducers of myeloid leukemic cells from *Citrus* species. *Chem Pharm Bull* 41, 714–719

Sun X. P., Wang Y. H., Wang L. W., Qin C., Liu X. M., 2013. Neuroprotective effects of forsythiaside on glutamate, low-glucose and low serum, A β _{25–35} induced neurotoxicity in PC12 cell. *Chin J Exp Tradit Med Form* 19, 197–200

Sutthivaiyakit S., Seeka C., Wetprasit N., Sutthivaiyakit P., 2013. C-methylated flavonoids from *Pisonia grandis* roots. *Phytochemistry Letters*. 6, 407–411

Tanaka M., Hashimoto K., Okuno T., Shirahama H., 1992. Chirality of the acyl group of gymnopilin. *Phytochemistry* 31, 4355–4356

Thao N, P., Luyen B. T. T., Vinh L. B., Lee J. Y., Kwon Y. I., Kim Y. H., 2016. Rat intestinal sucrase inhibited by minor constituents from the leaves and twigs of *Archidendron clypearia* (Jack.) Nielsen. *Bioorg Med Chem Lett* 26, 4272–4276

Tokar M., Klimek B., 2004. Isolation and identification of biologically active compounds from *Forsythia viridissima* flowers. *Acta Pol Pharm* 61, 191–197

Uchiyama T., Miyase T., Ueno A., Usmanghani K., 1991. Terpene and lignan glycosides from *Pluchea indica*. *Phytochemistry*, 30, 655–657

Umeokoli B. O., Muharini R., Okoye F. B., Ajiwe V I., Akpuaka M U., Lin W., Liu Z., Proksch P., 2016. New *C*-methylated flavonoids and α -pyrone derivative from roots of *Talinum triangulare* growing in Nigeria. *Fitoterapia* 109, 169–173

Voirin B., Lebreton P., 1967. Chamotaxonomic investigation of vascular plants, presence of 6-methylchrysin in the fern *Lonchitis tisserantii*. *Bull Soc Chim Biol* 49, 1402–1405

Wang E. L., Yao J. C., Liu Z., 2015. Effect of forsythiaside on immunological hepatic fibrosis of rats. *Drug Eval Res* 38, 161–164

Wang S. S., Zhang X. J., Que S., Tu G. Z., Wan D., Cheng Wei., Liang H., Ye J., Zhang Q. Y., 2012. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl flavonol glycosides from *Oxytropis falcate*. *J Nat Prod*, 75, 1359–1364

Wang Z., Xia Q., Liu X., Liu W., Huang W., Mei X., Luo J., Shang M., Lin R., Zou D., Ma Z., 2018. Phytochemistry, pharmacology, quality control and future research of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl: a review. *J Ethnopharmacol* 210, 318–339

Wollenweber E., 1994. *The Flavonoids: Advances in Research since 1986*, ed. Harborne, J. B., London: Chapman & Hall, pp 259–335

Wollenweber E., Jay M., 1998. *The Flavonoids: Advances in Research since 1980*, ed. Harborne, J. B., London: Chapman & Hall, pp 233–302

Xu, S., Shang, M. Y., Liu, G. X., Xu, F., Wang, X., Shou, C. C., Cai, S. Q., 2013. Chemical constituents from the rhizomes of *Smilax glabra* and their antimicrobial activity. *Molecules* 18, 5265–5287.

Yang S. J., Choe T. B., 2011. Antioxidant activity and whitening effect of forsythiae fructus extracts. *Korean J Medicinal Crop Sci* 19, 472–477

Yoshikawa M., Shimada H., Nishida N., Li Y., Toguchida I., Yamahara J., Matsuda H., 1998. Antidiabetic principles of natural medicines. II. aldose reductase and α -glucosidase inhibitors from brazilian natural medicine, the leaves of *Myrcia multiflora* DC. (Myrtaceae): structures of myrciacitrins I and II myrciaphenones A and B. *Chem Pharm Bull* 46, 113–119

Youssef D. T. A., Ramadan M. A., Khalifa A. A., 1998. Acetophenones a chalcone, a chromone and flavonoids from *Pancraticum maritimum*. *Phytochemistry* 49, 2579–2593

Yu M., Wang Y., Tian L., Wang Y., Wang X. Z., Liang W. G., Yang J. Y., Yu D. H., Ma T. H., Fang X. X., 2015. Safflomin A inhibits neuraminidase activity and influenza virus replication, *RSC adv* 5, 94053–94066

Zhao L., Yan X., Shi J., Ren F., Liu L., Sun S., Shan B., 2015. Ethanol extract of *Forsythia suspensa* root induces apoptosis of esophageal carcinoma cells via the mitochondrial apoptotic pathway, *Mol Med Rep* 11, 871–880

Zhang M. R., Wei S. R., Wu Y. C., Sun F. L., Ai H. J., Zhang L., Wang W., 2011. Effects of phillyrin on MPP⁺-induced injury in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Acta Neuropharmacol* 1, 12–15

Abstract

Phenolic constituents of *Pentarhizidium orientale* and *Forsythia viridissima* and Their Antiviral Activities

Jungmoo Huh

College of Pharmacy, Pharmacognosy

The Graduate School

Seoul National University

Pentarhizidium orientale (Hook.) Hayata (syn. *Matteuccia orientalis*) is a perennial pteridophyte that belongs to onocleaceae and is distributed mainly in East Asia. It has been used as a helminthic and diuretic in Korean folk medicine. Isocoumarins, phthalides, flavonoids, flavonoid glycosides and stilbenes have been reported from *P. orientale*.

The methanolic extract of *P. orientale* rhizome was suspended in H₂O and successively partitioned with CH₂Cl₂, *n*-BuOH and water residue. Further purification was conducted and thirty two compounds were isolated from three fractions. Thirteen new *C*-methylated flavonoid glycosides (**1–13**) and two new stilbenes (**31, 32**), along with 17 previously known compounds (**14–30**) were isolated. The structures of isolated compounds were characterized by spectroscopic analysis and chemical derivatization.

The isolated compounds were evaluated for their antiviral activities against H1N1 influenza virus, with compounds **21, 22, 23, 25** and **26** showing inhibitory effects against neuraminidases.

Forsythia viridissima Ldl. belongs to oleaceae and it is reported that

11 species of forsythia plants are distributed in East Asia. A well-known traditional medicine, 'Yeon-Gyo' refers to the fruits of *F. viridissima* and *F. suspensa*, and arctigenin and forsythiaside A are representative compounds. Lignan, lignan glycosides, caffeic acid glycosides, triterpenoids, iridoids have been reported from *F. viridissima*. In addition, anti-inflammation, lipid metabolism using HepG2 cells, and antioxidant have been reported, and the most studies on the isolation and bioactivity are mostly about fruit.

The methanolic extract of *F. viridissima* root was suspended in water and successively partitioned with *n*-hexane, CH₂Cl₂, *n*-BuOH. Sixteen lignans, including six new dilignans (**1–6**) and one lignan glycoside (**16**) were isolated through various chromatographic methods.

The isolates were examined for their antiviral activities against CVB3 and HRV1B enteroviruses. As a result, compounds **12**, **15** and **16** showed antiviral effect of on CVB3 virus, and compound **2** elicited antiviral activity against HRV1B virus.

Keywords: *Pentarrhizidium orientale*, onocleaceae, C-methylated flavonoid glycosides, Stilbene, *Forsythia viridissima*, oleaceae, dilignan

Student Number: 2012–30469

Supplementary information

List of Supplementary information

Part 1. *C*-methylated flavonoid glycosides and stilbenes from *Pentarrhizidium orientale* rhizomes and their inhibitory effects on the H1N1 influenza virus

Figure S1. HSQC spectrum of compound 1	297
Figure S2. COSY spectrum of compound 1.....	298
Figure S3. HMBC spectrum of compound 1	299
Figure S4. HSQC spectrum of compound 2.....	300
Figure S5. COSY spectrum of compound 2.....	301
Figure S6. HMBC spectrum of compound 2	302
Figure S7. HSQC spectrum of compound 3	303
Figure S8. COSY spectrum of compound 3.....	304
Figure S9. HMBC spectrum of compound 3	305
Figure S10. HSQC spectrum of compound 4.....	306
Figure S11. COSY spectrum of compound 4	307
Figure S12. HMBC spectrum of compound 4	308
Figure S13. HSQC spectrum of compound 5.....	309
Figure S14. COSY spectrum of compound 5	310
Figure S15. HMBC spectrum of compound 5	311
Figure S16. HSQC spectrum of compound 6.....	312
Figure S17. COSY spectrum of compound 6	313
Figure S18. HMBC spectrum of compound 6	314
Figure S19. HSQC spectrum of compound 7	315
Figure S20. COSY spectrum of compound 7	316
Figure S21. HMBC spectrum of compound 7	317
Figure S22. HSQC spectrum of compound 8.....	318
Figure S23. COSY spectrum of compound 8	319
Figure S24. HMBC spectrum of compound 8	320

Figure S25. HSQC spectrum of compound 9	321
Figure S26. COSY spectrum of compound 9	322
Figure S27. HMBC spectrum of compound 9	323
Figure S28. HSQC spectrum of compound 10	324
Figure S29. COSY spectrum of compound 10	325
Figure S30. HMBC spectrum of compound 10	326
Figure S31. HSQC spectrum of compound 11	327
Figure S32. COSY spectrum of compound 11	328
Figure S33. HMBC spectrum of compound 11	329
Figure S34. HSQC spectrum of compound 12	330
Figure S35. COSY spectrum of compound 12	331
Figure S36. HMBC spectrum of compound 12	332
Figure S37. HSQC spectrum of compound 13	333
Figure S38. COSY spectrum of compound 13	334
Figure S39. HMBC spectrum of compound 13	335
Figure S40. HSQC spectrum of compound 31	336
Figure S41. COSY spectrum of compound 31	337
Figure S42. HMBC spectrum of compound 31	338
Figure S43. HSQC spectrum of compound 32	339
Figure S44. COSY spectrum of compound 32	340
Figure S45. HMBC spectrum of compound 32	341

Part 2. Dilignans from *Forsythia viridissima* and their antiviral activities

Figure S46. HSQC spectrum of compound 1	343
Figure S47. COSY spectrum of compound 1	344
Figure S 48. HMBC spectrum of compound 1	345
Figure S49. NOESY spectrum of compound 1	346

Figure S50. HSQC spectrum of compound 2	347
Figure S51. COSY spectrum of compound 2	348
Figure S52. HMBC spectrum of compound 2	349
Figure S53. NOESY spectrum of compound 2	350
Figure S54. HSQC spectrum of compound 3	351
Figure S55. COSY spectrum of compound 3	352
Figure S56. HMBC spectrum of compound 3	353
Figure S57. NOESY spectrum of compound 3	354
Figure S58. HSQC spectrum of compound 4	355
Figure S59. COSY spectrum of compound 4	356
Figure S60. HMBC spectrum of compound 4	357
Figure S61. NOESY spectrum of compound 4	358
Figure S62. HSQC spectrum of compound 5	359
Figure S63. COSY spectrum of compound 5	360
Figure S64. HMBC spectrum of compound 5	361
Figure S65. NOESY spectrum of compound 5	362
Figure S66. HSQC spectrum of compound 6	363
Figure S67. COSY spectrum of compound 6	364
Figure S68. HMBC spectrum of compound 6	365
Figure S69. NOESY spectrum of compound 6	366
Figure S70. HSQC spectrum of compound 16	367
Figure S71. COSY spectrum of compound 16	368
Figure S72. HMBC spectrum of compound 16	369
Figure S73. NOESY spectrum of compound 16	370

Part 1. C-methylated flavonoid glycosides and stilbenes from *Pentarhizidium orientale* rhizomes and their inhibitory effects on the H1N1 influenza virus

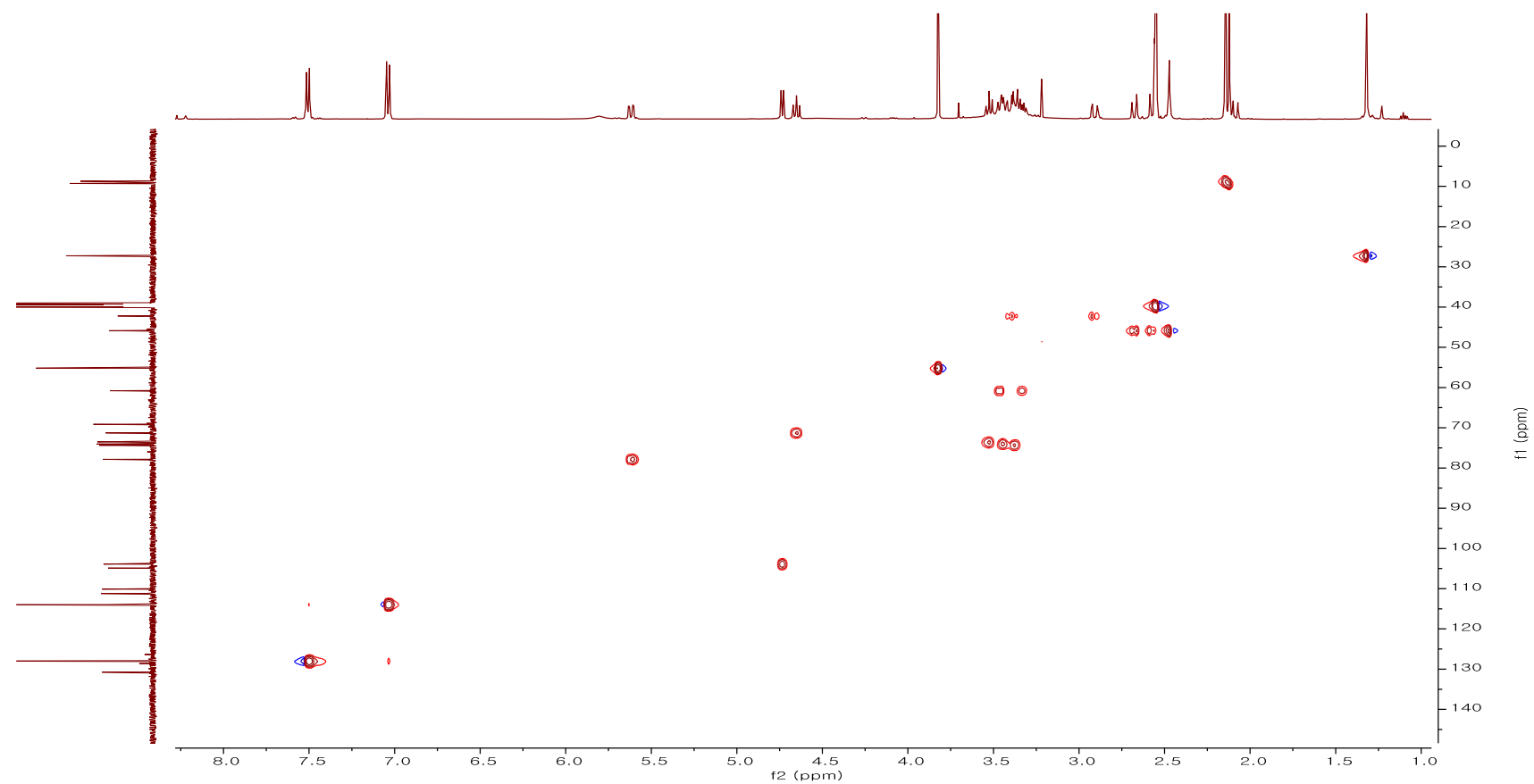


Figure S1. HSQC spectrum of compound 1

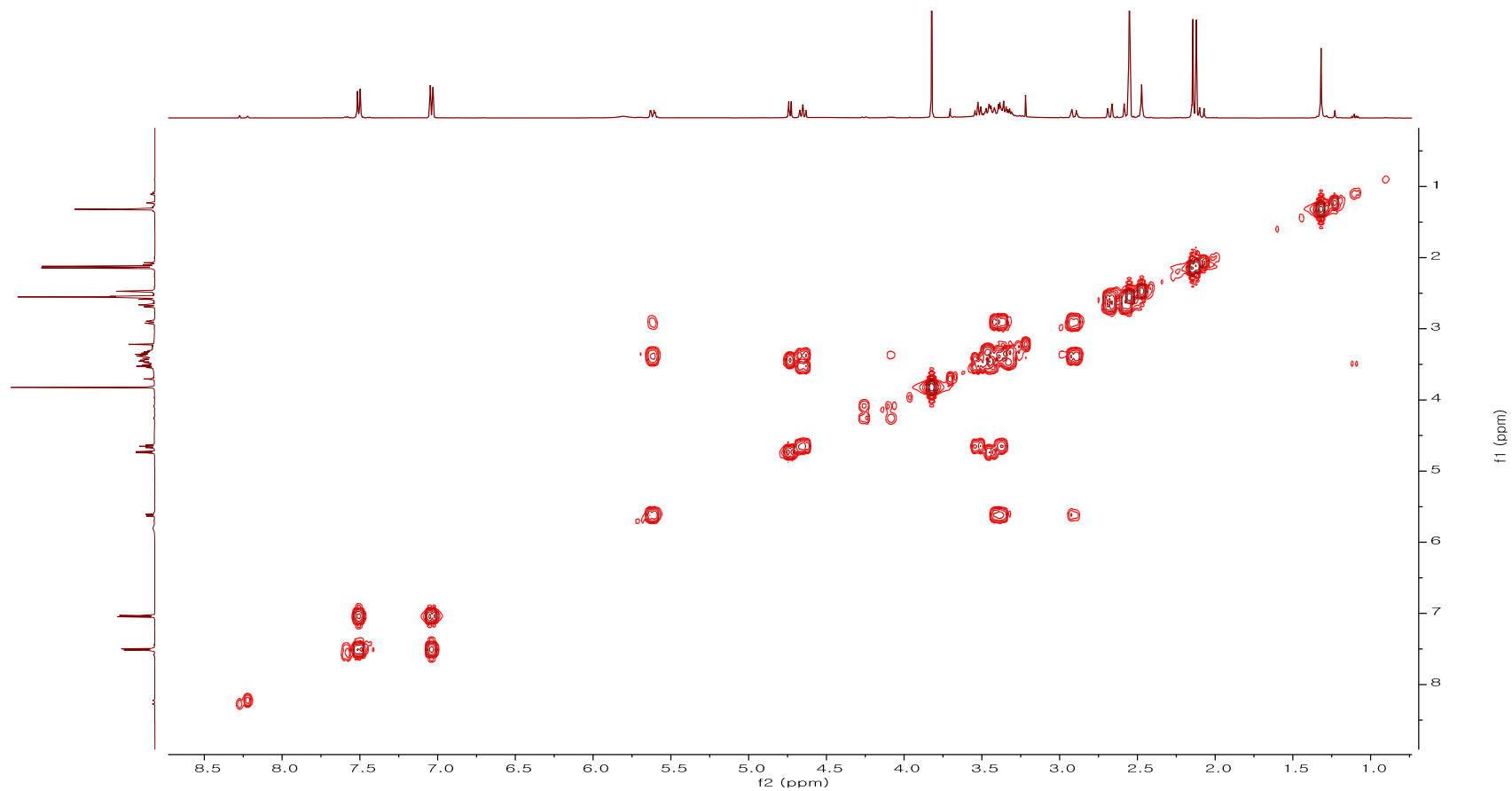


Figure S2. COSY spectrum of compound 1

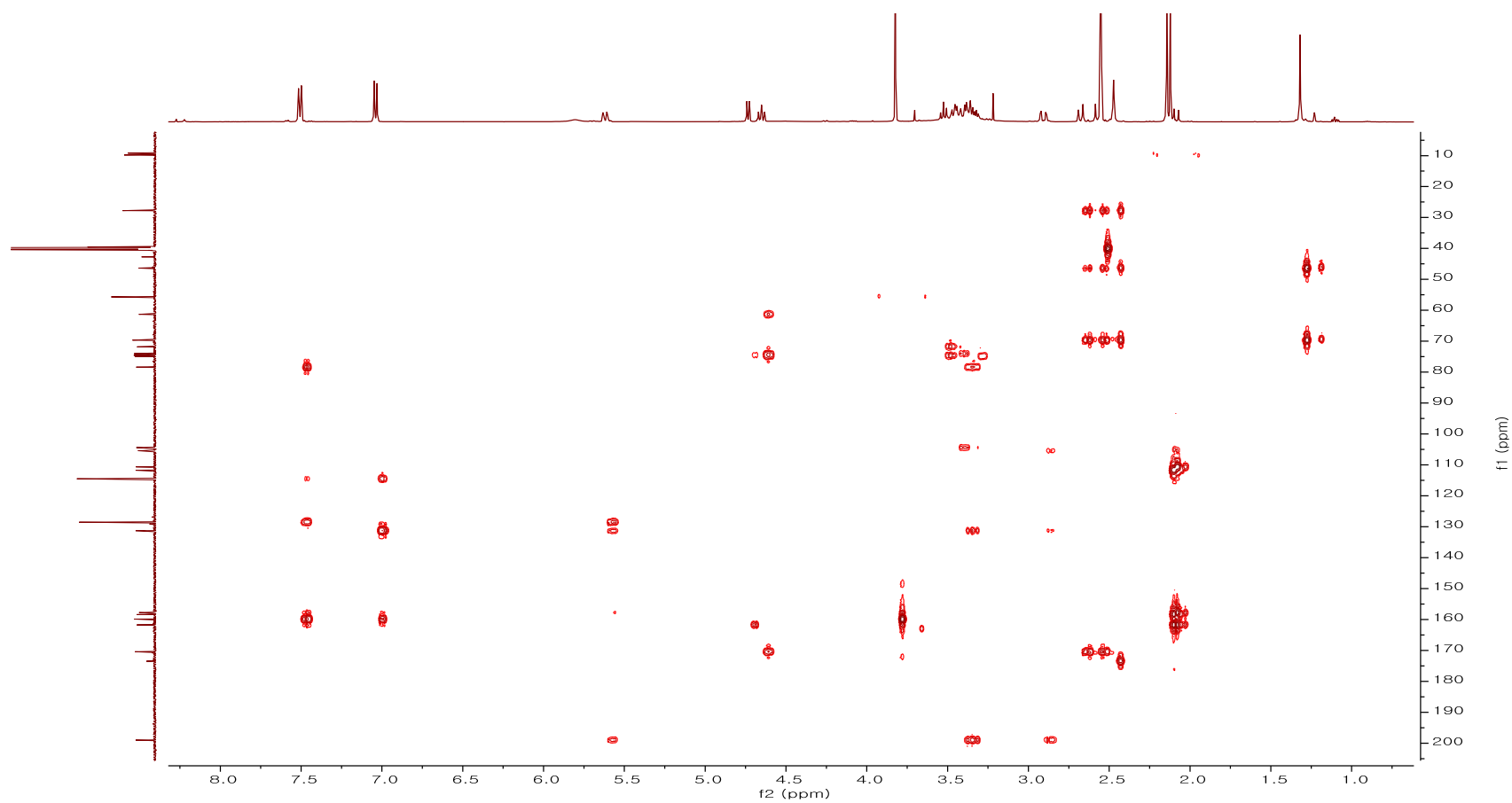


Figure S3. HMBC spectrum of compound 1

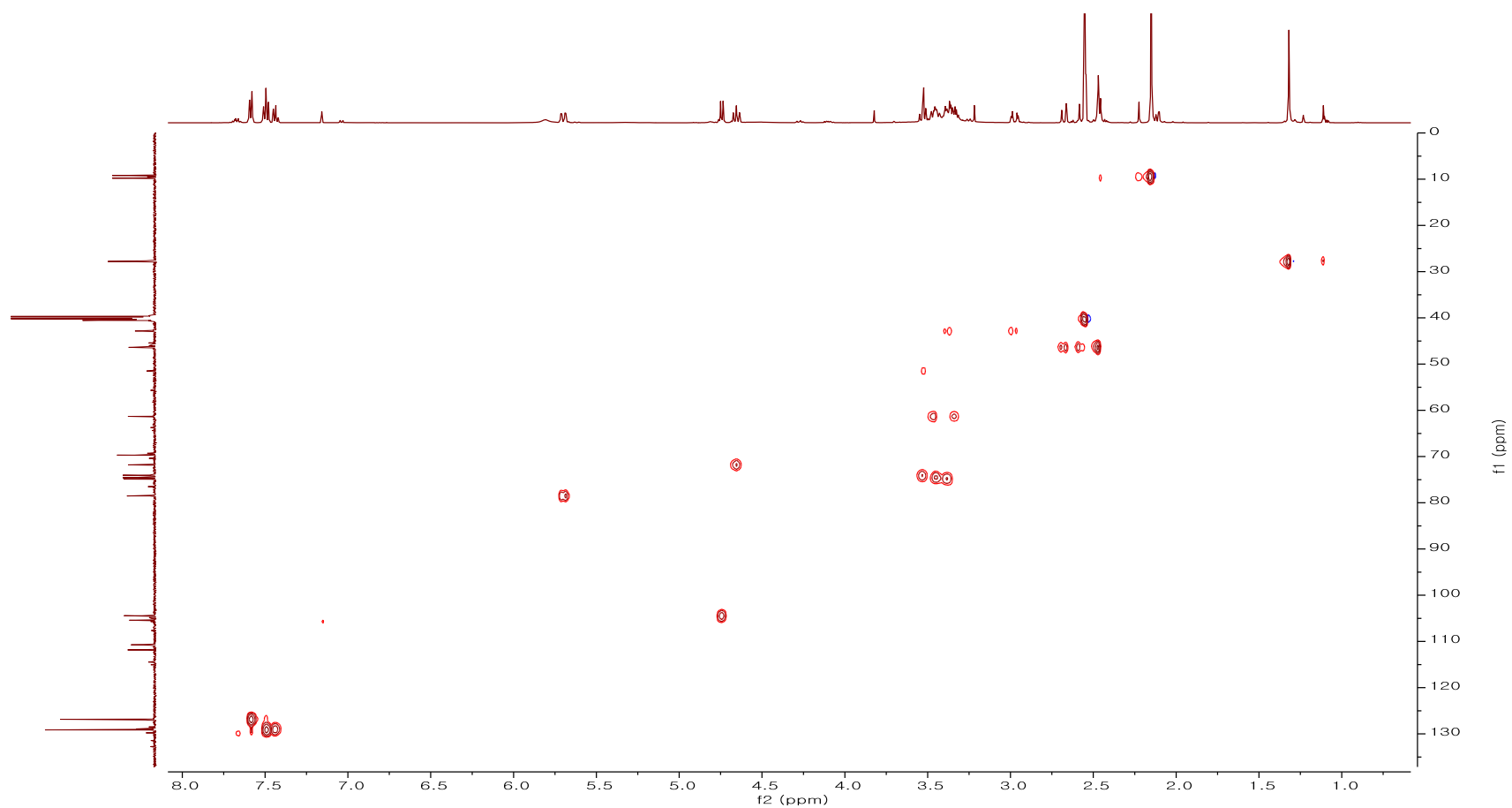


Figure S4. HSQC spectrum of compound 2

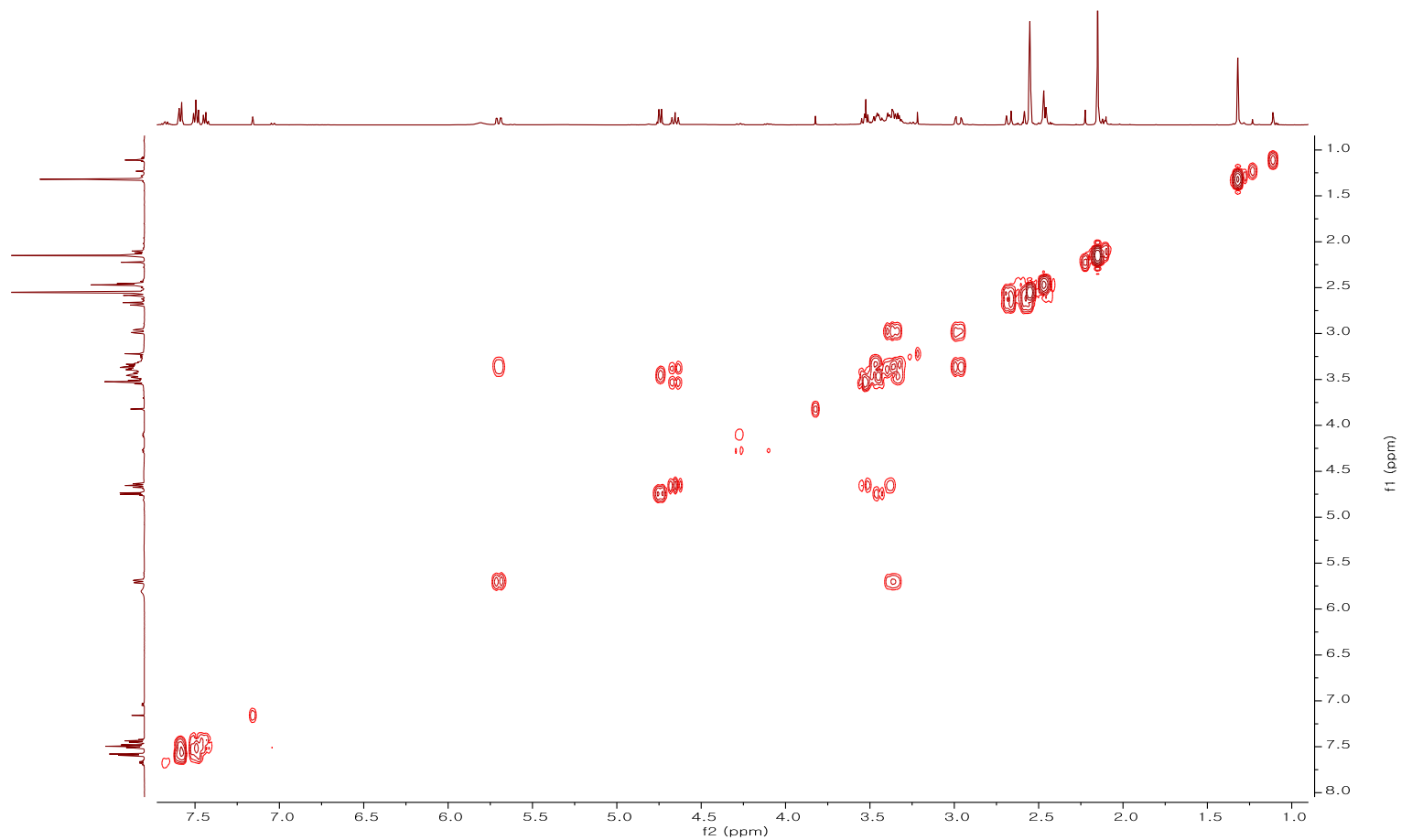


Figure S5. COSY spectrum of compound 2

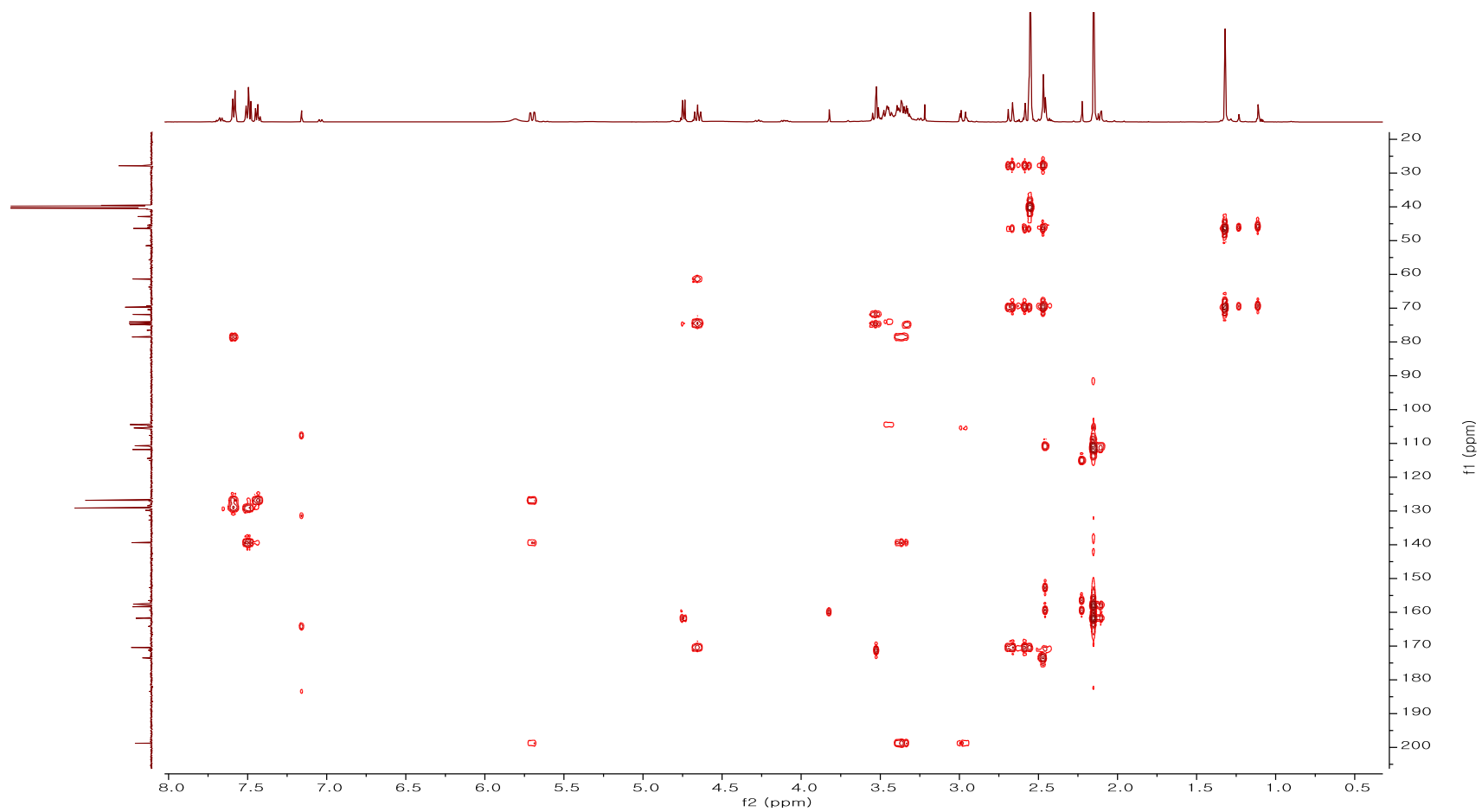


Figure S6. HMBC spectrum of compound 2

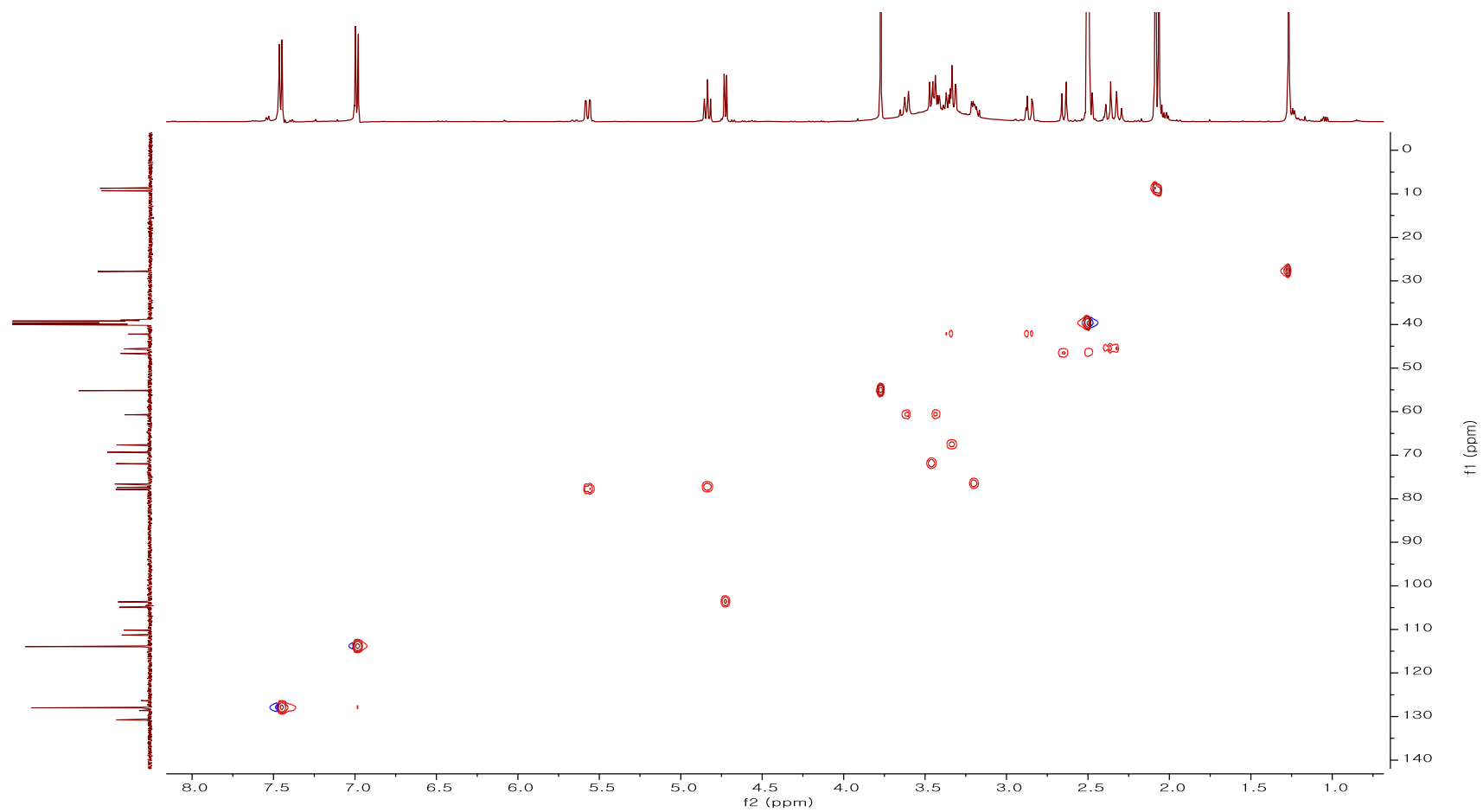


Figure S7. HSQC spectrum of compound 3

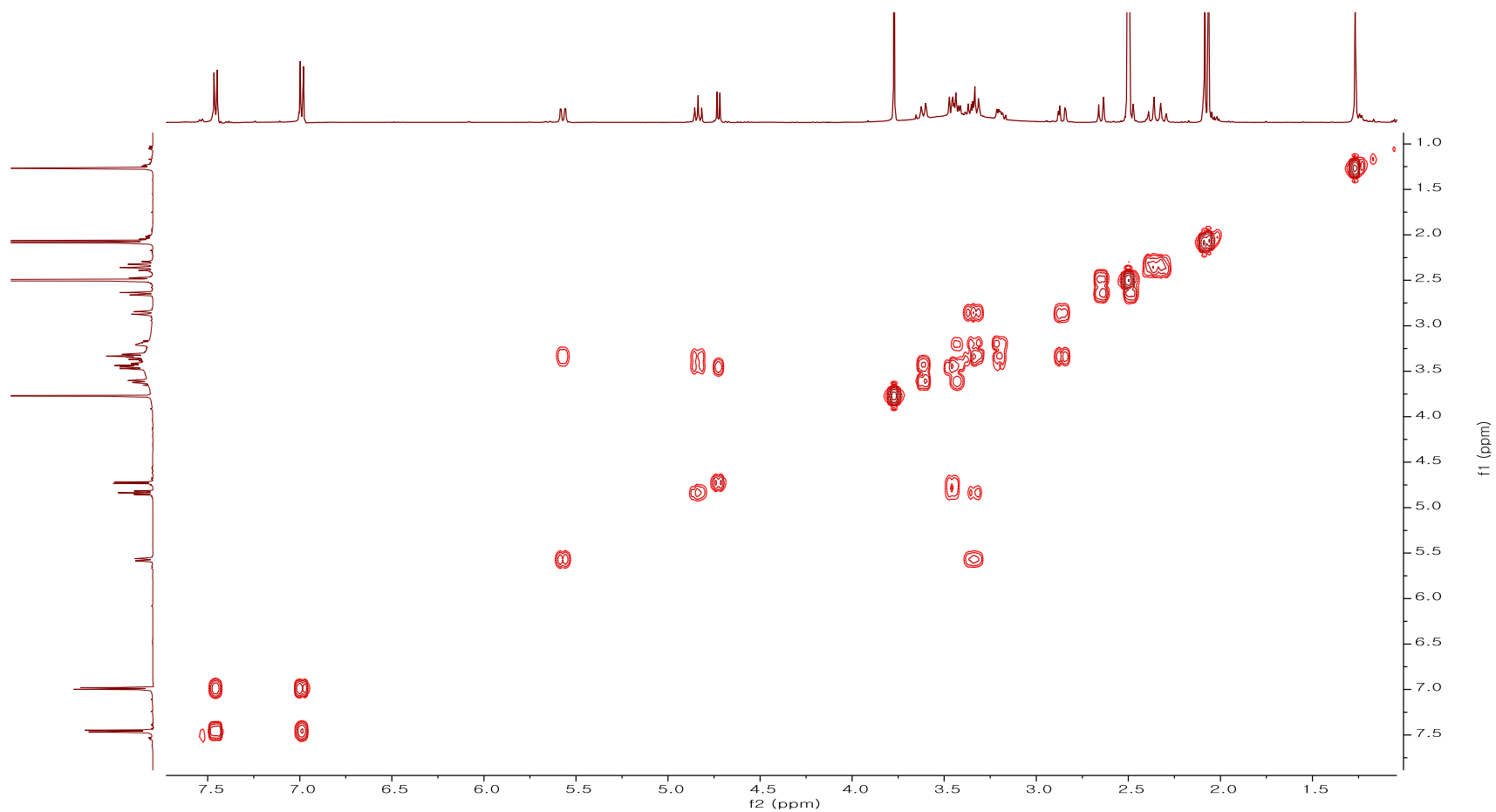


Figure S8. COSY spectrum of compound 3

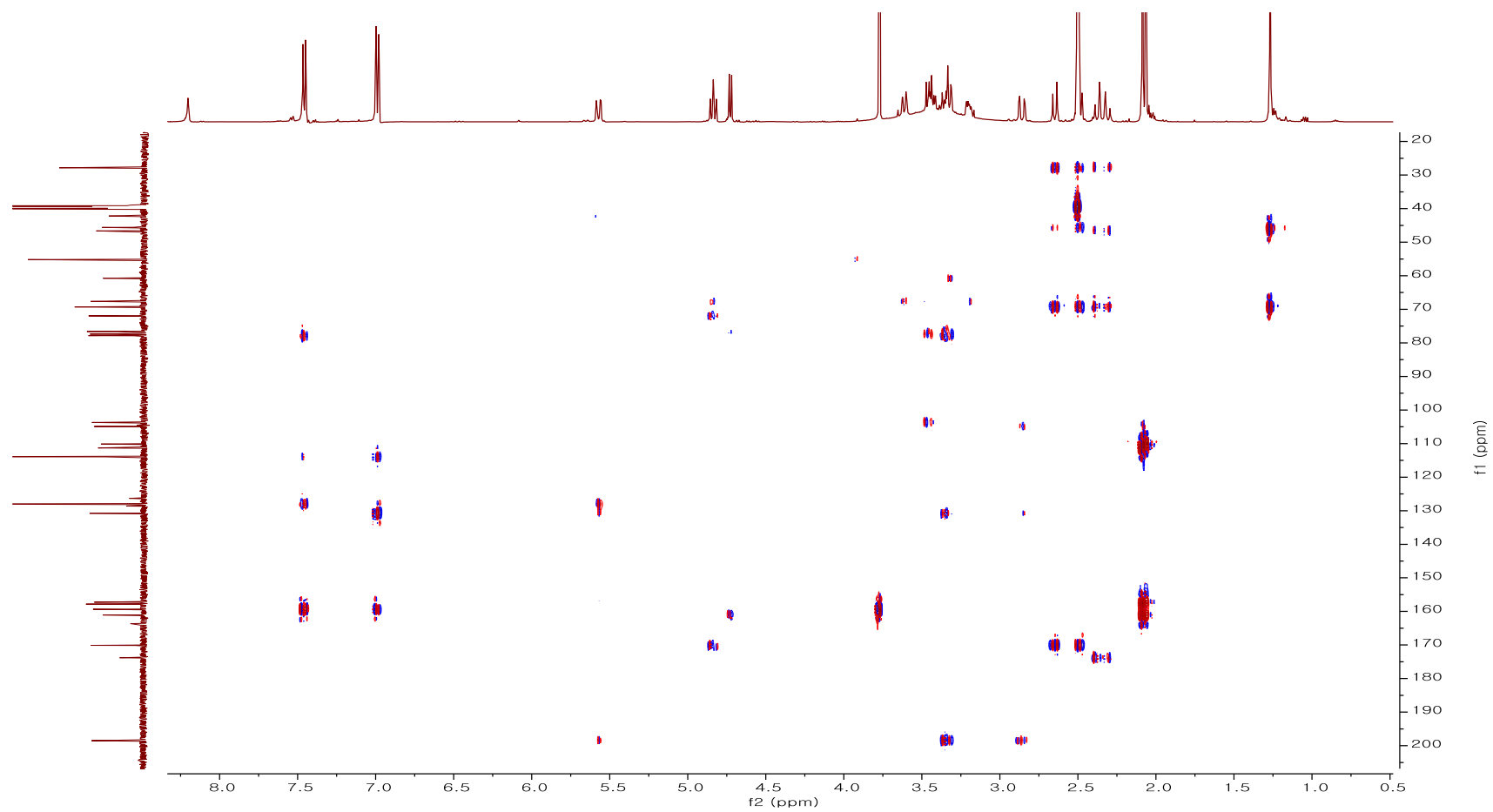


Figure S9. HMBC spectrum of compound 3

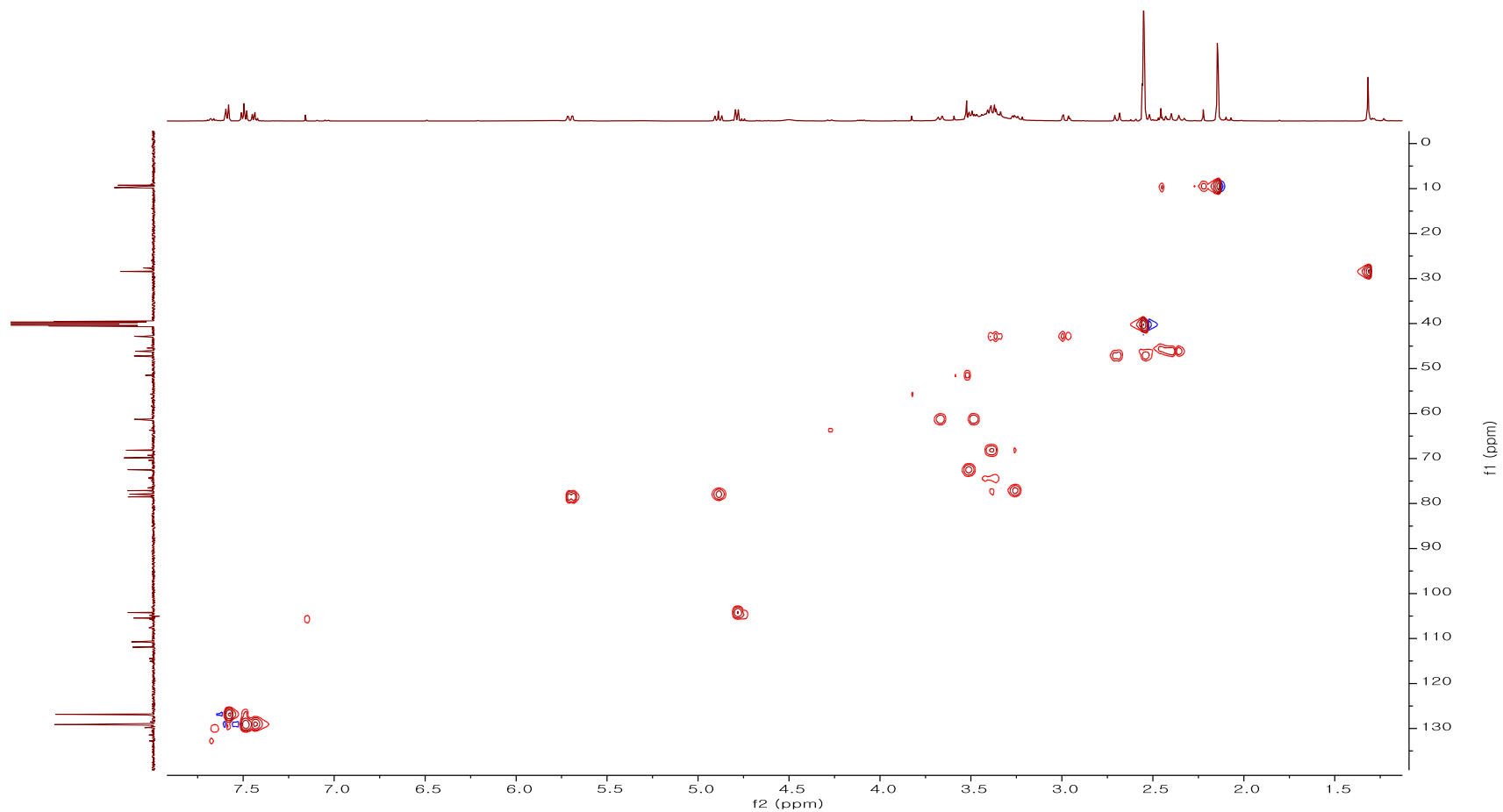


Figure S10. HSQC spectrum of compound 4

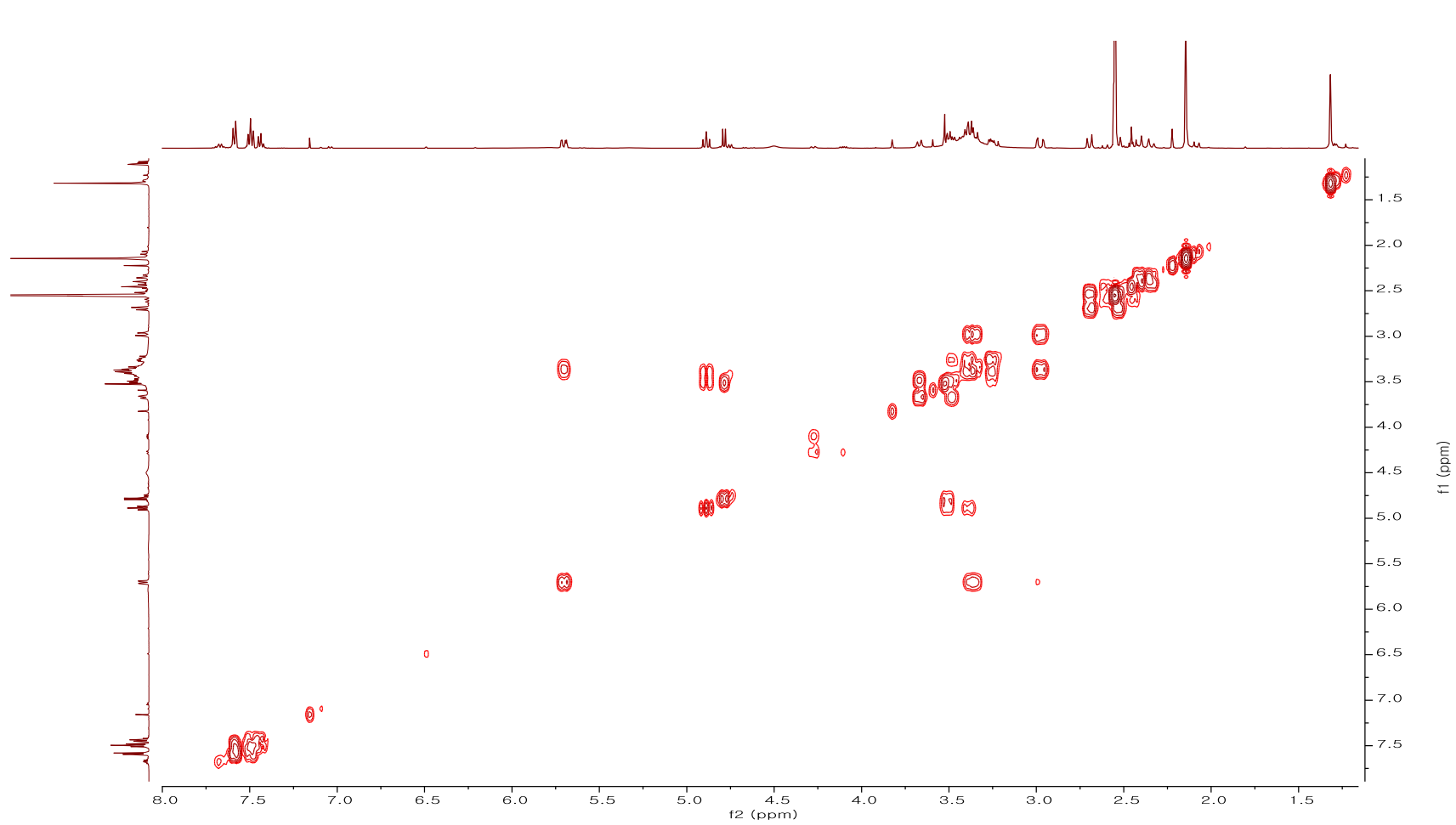


Figure S11. COSY spectrum of compound 4

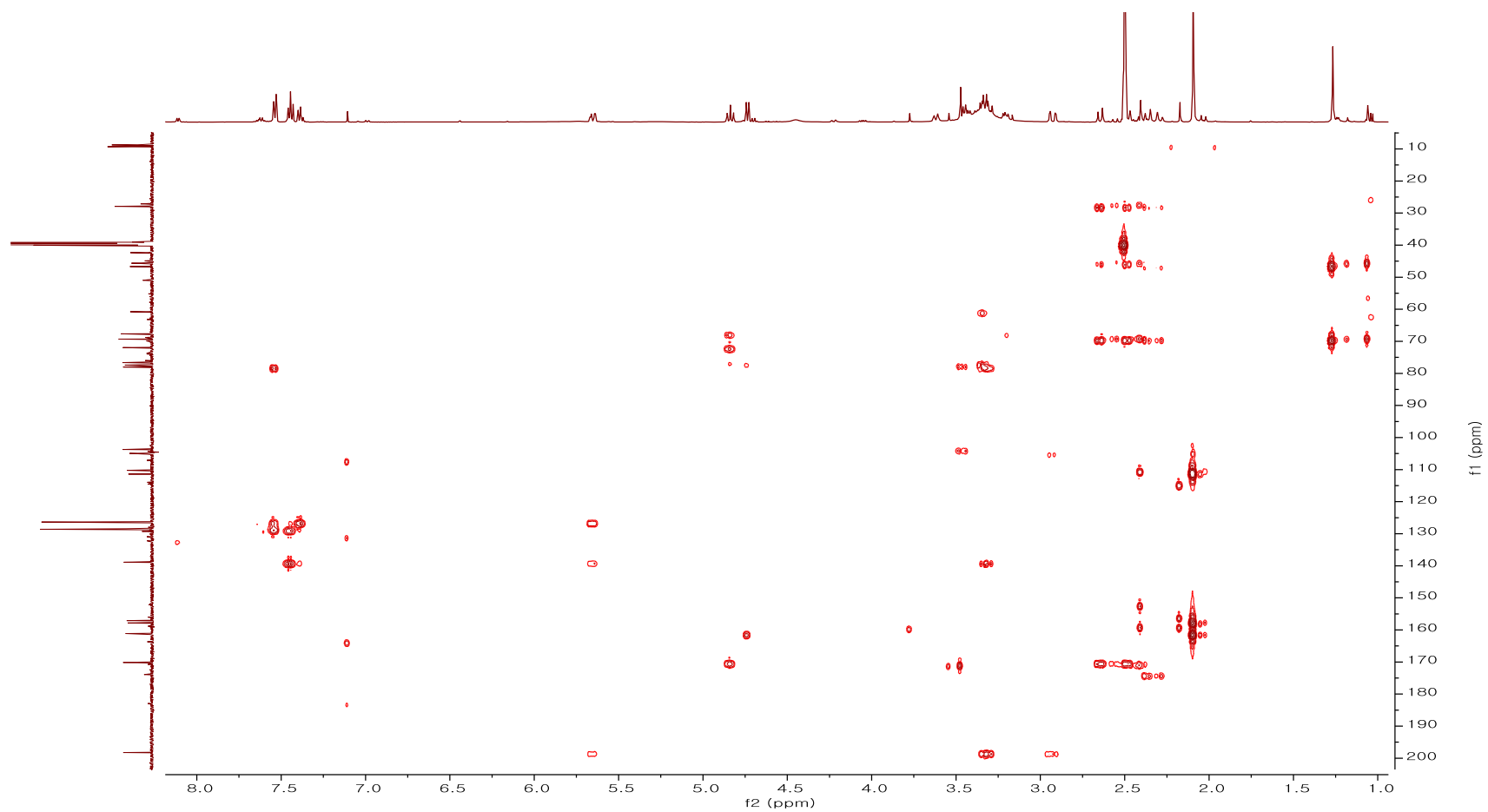


Figure S12. HMBC spectrum of compound 4

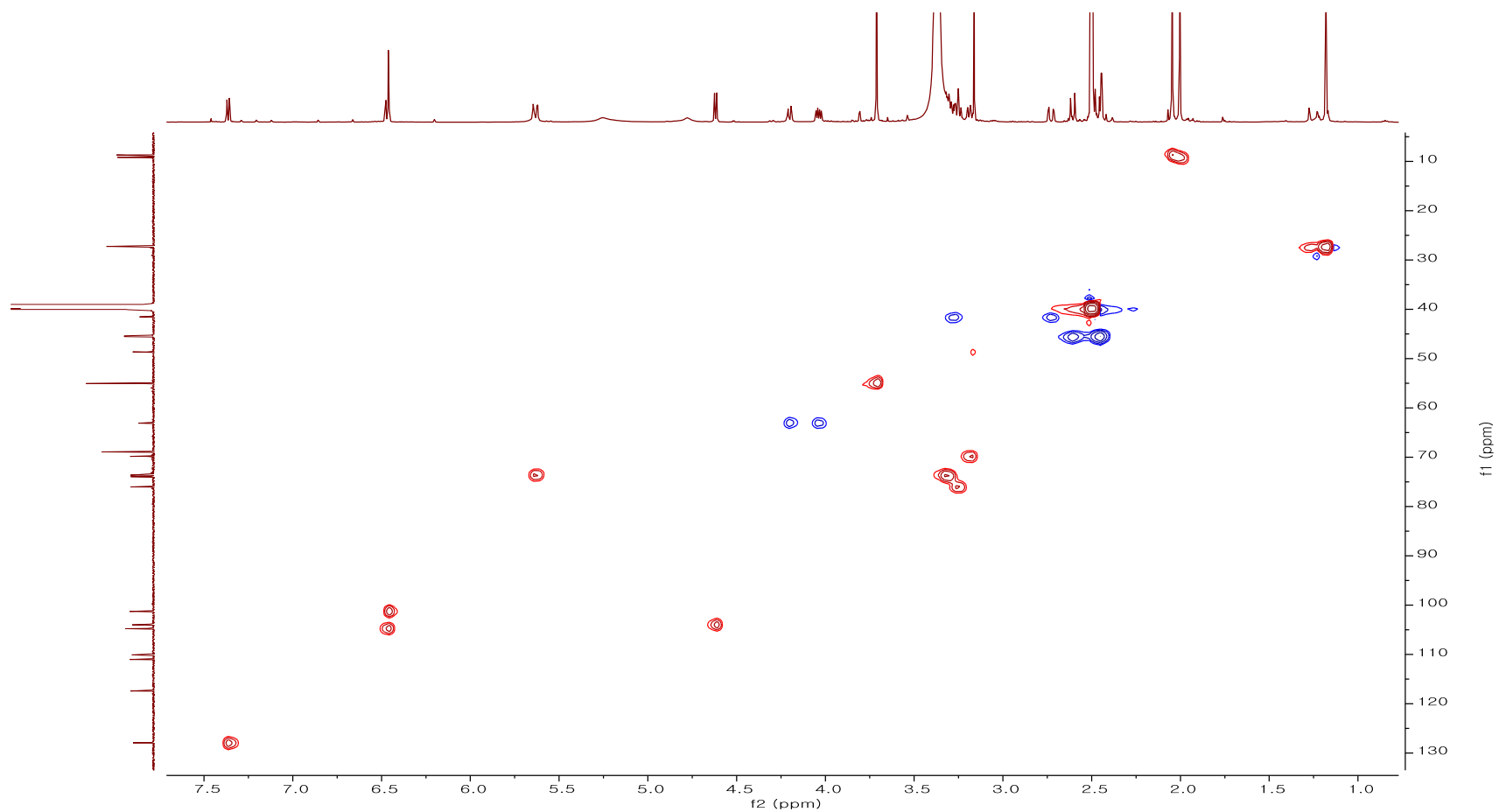


Figure S13. HSQC spectrum of compound 5

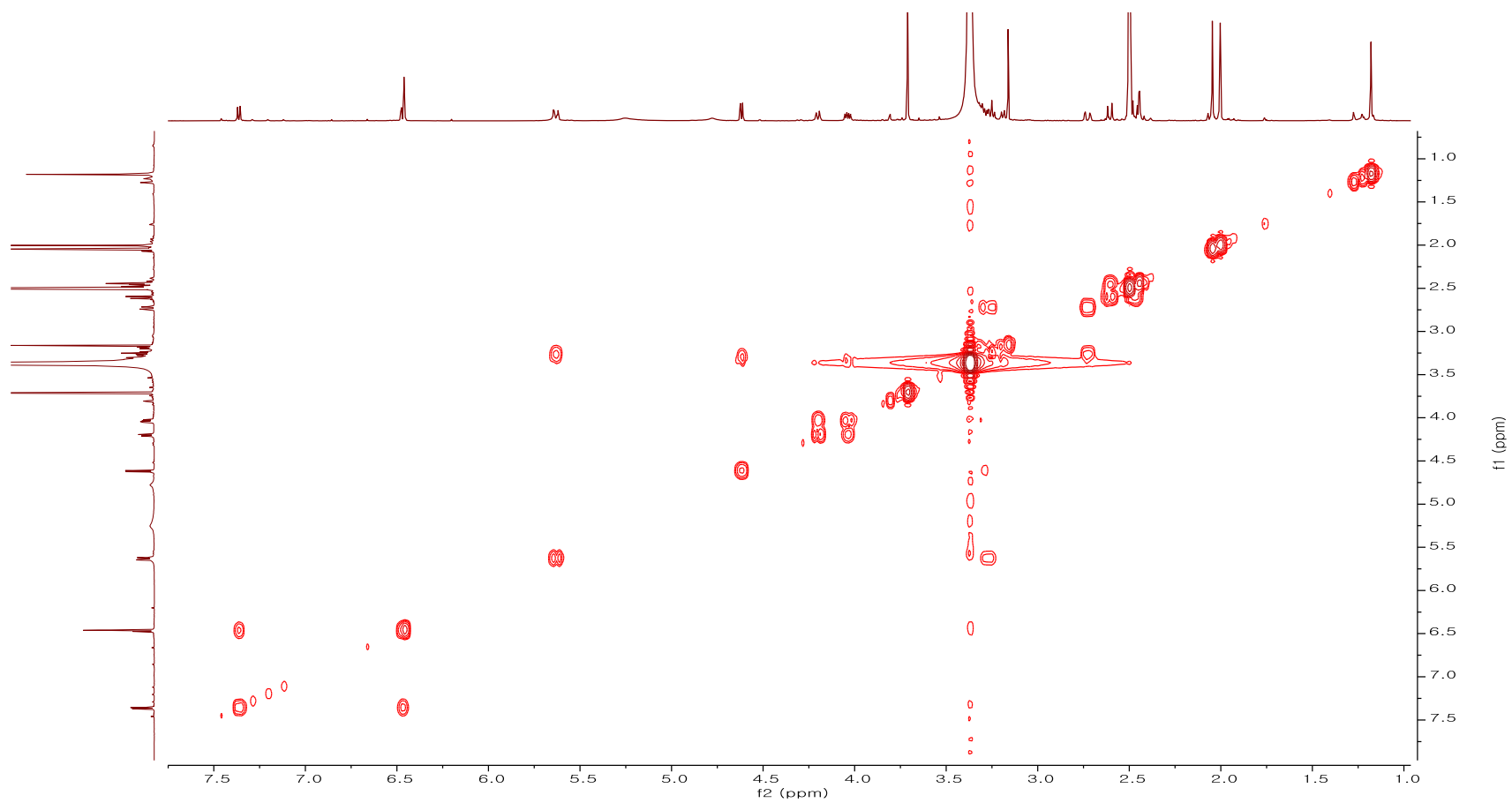


Figure S14. COSY spectrum of compound 5

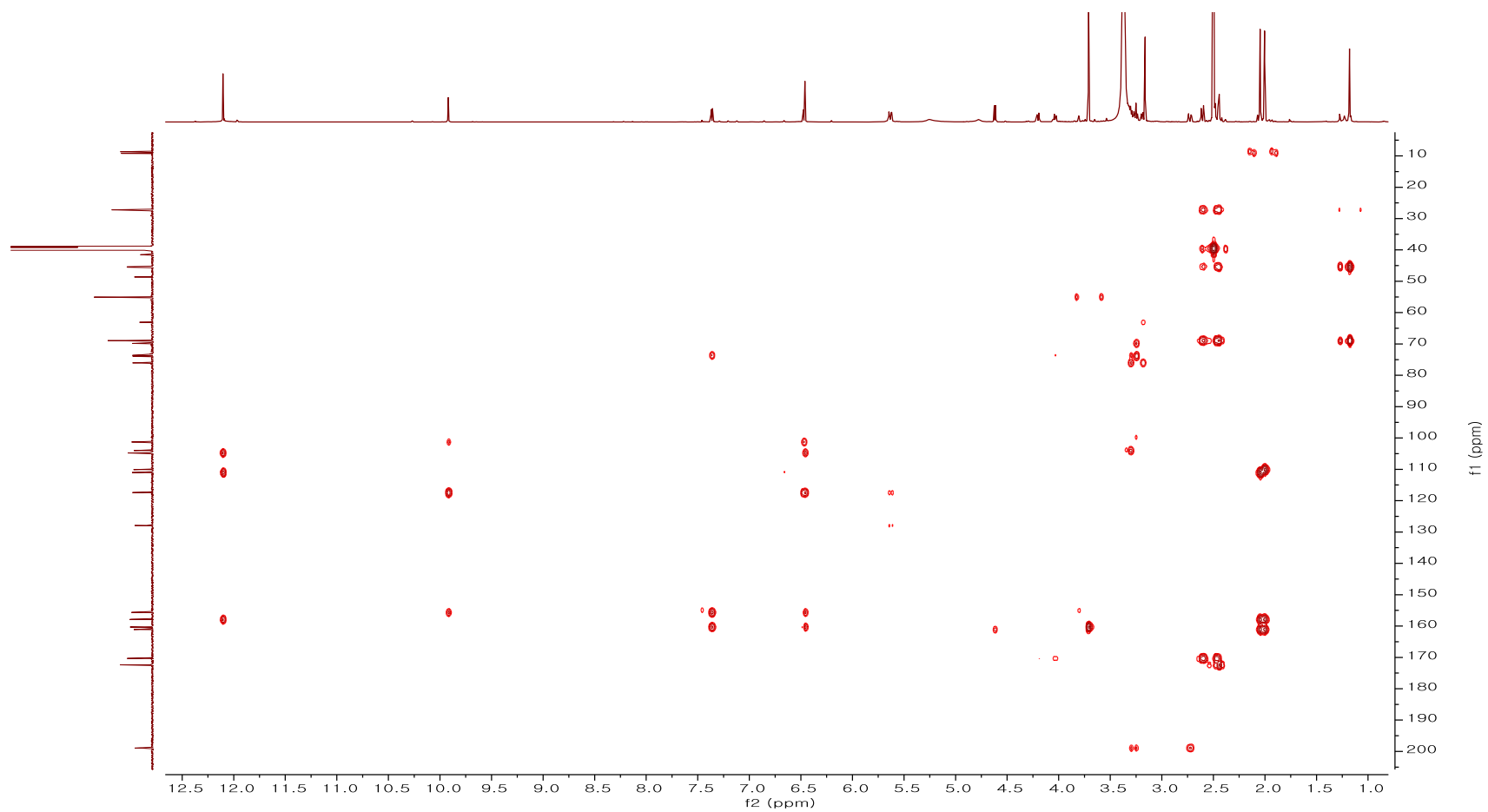


Figure S15. HMBC spectrum of compound 5

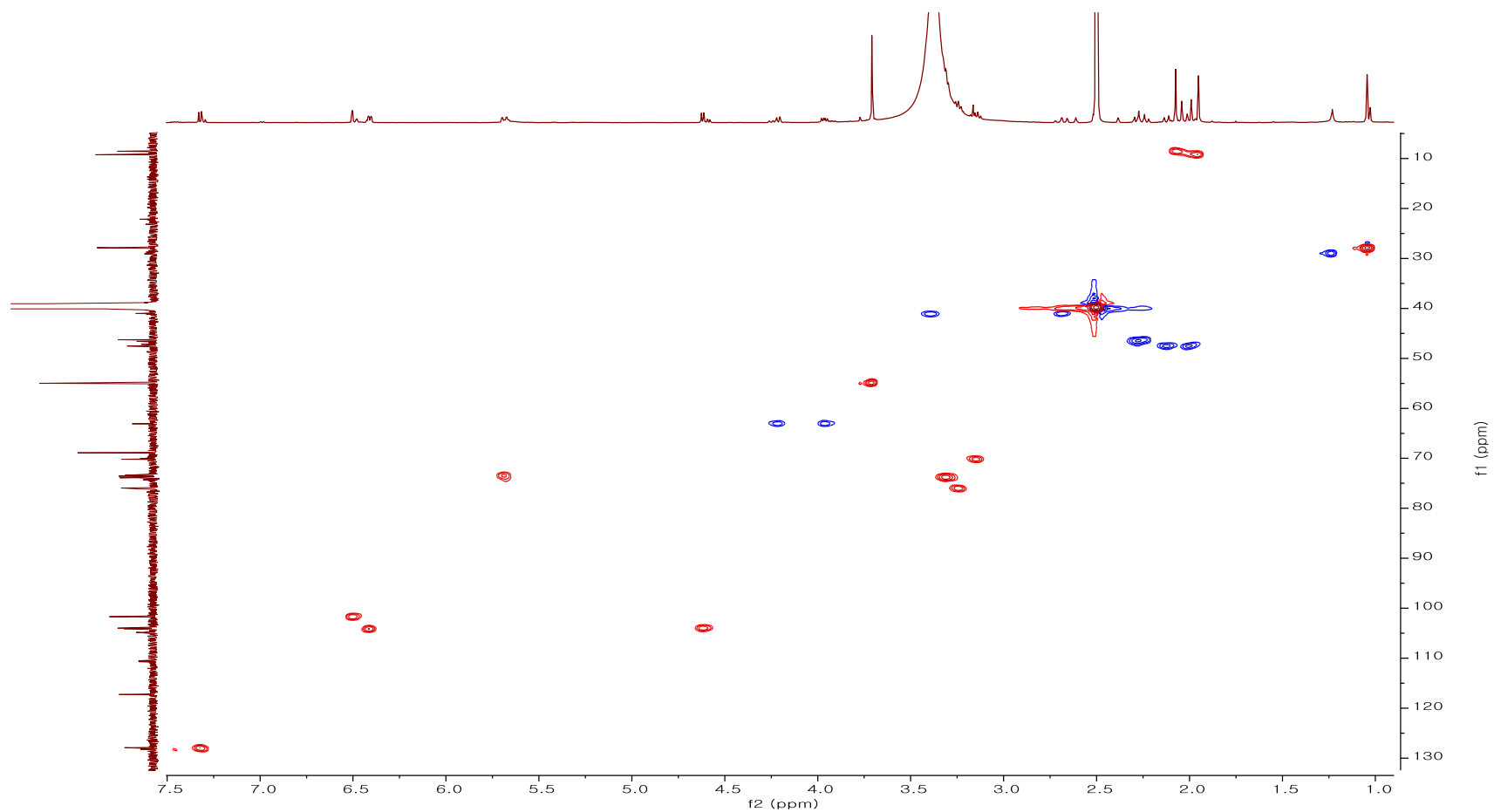


Figure S16. HSQC spectrum of compound 6

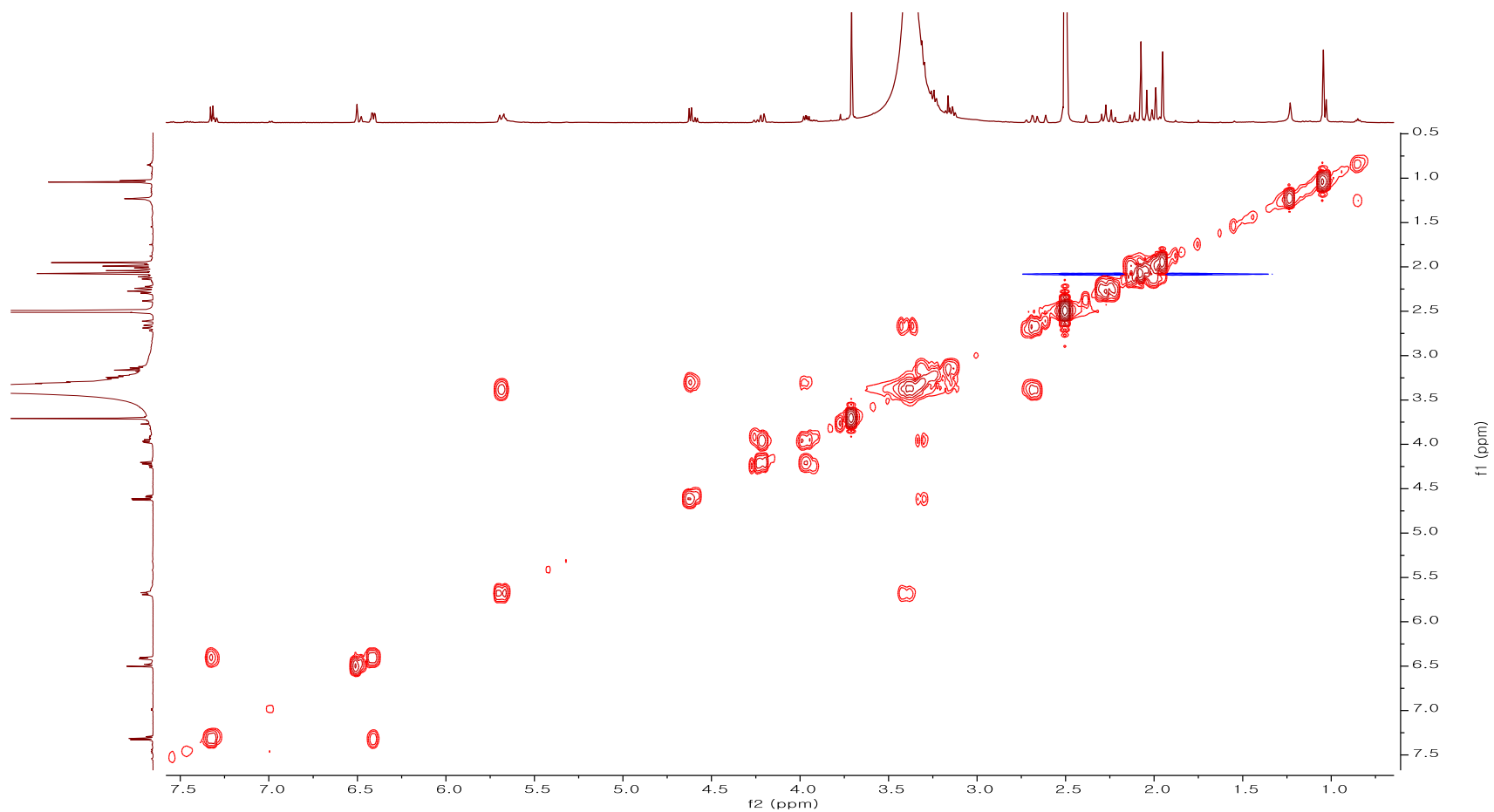


Figure S17. COSY spectrum of compound 6

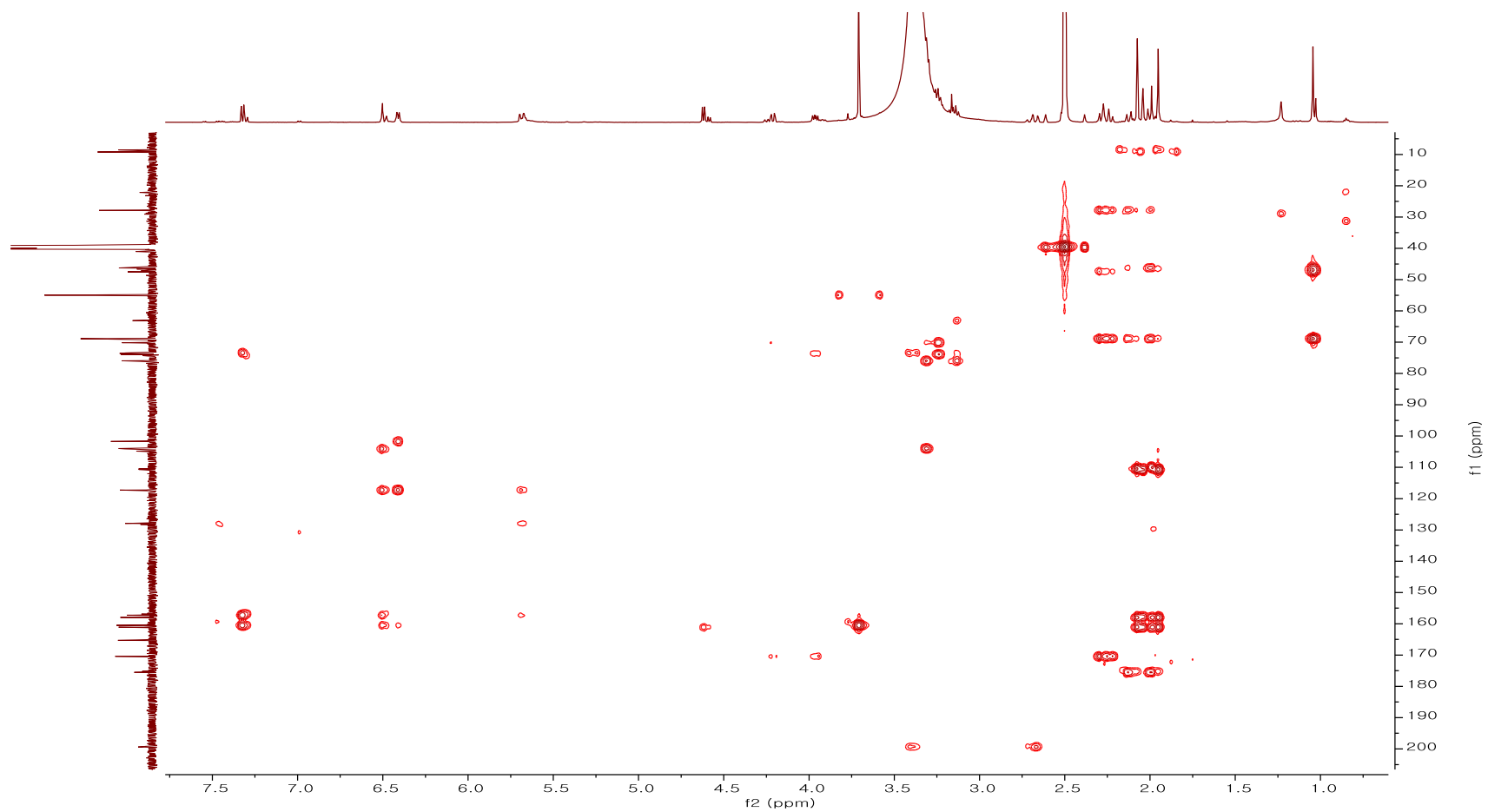


Figure S18. HMBC spectrum of compound 6

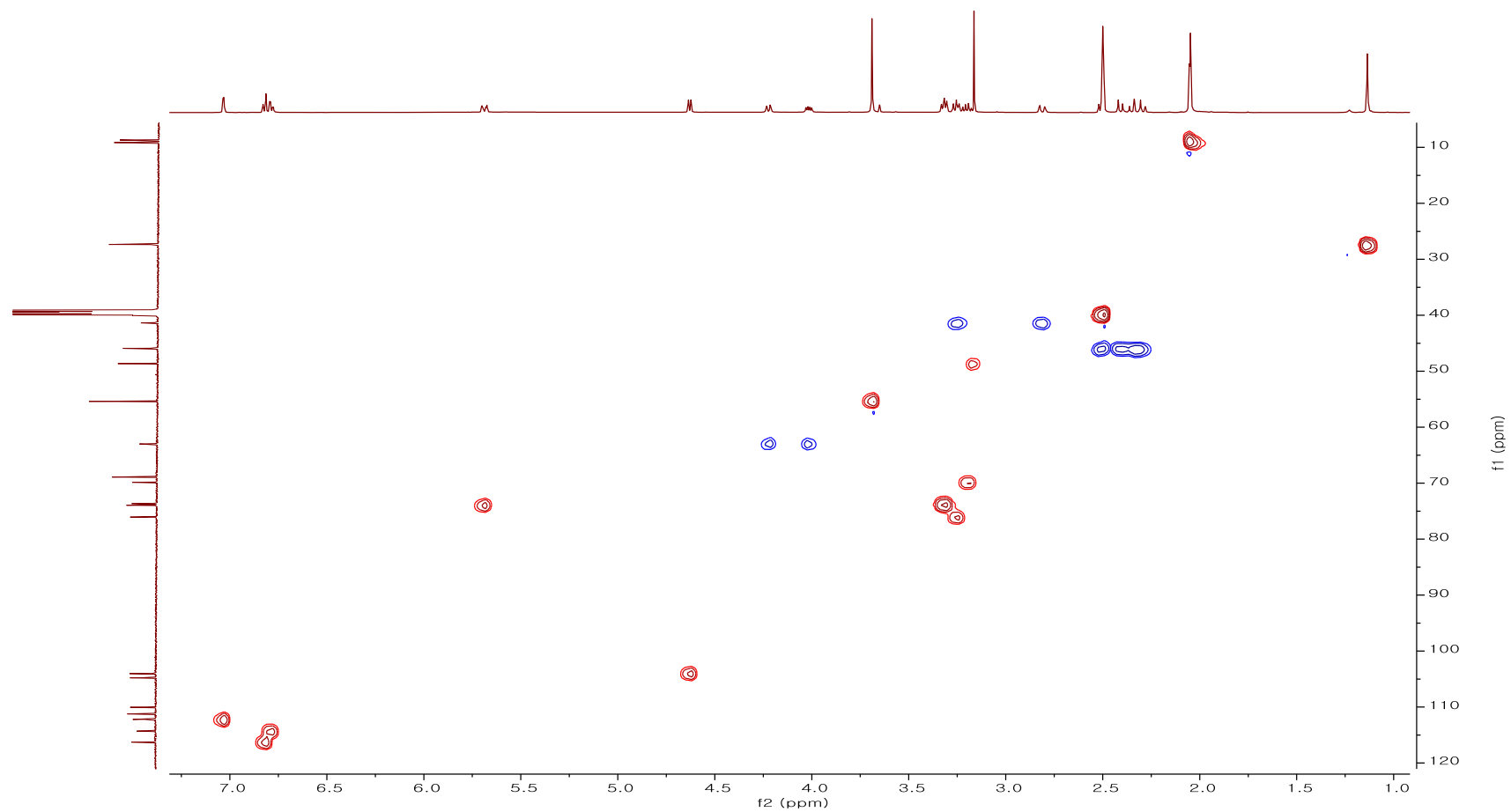


Figure S19. HSQC spectrum of compound **7**

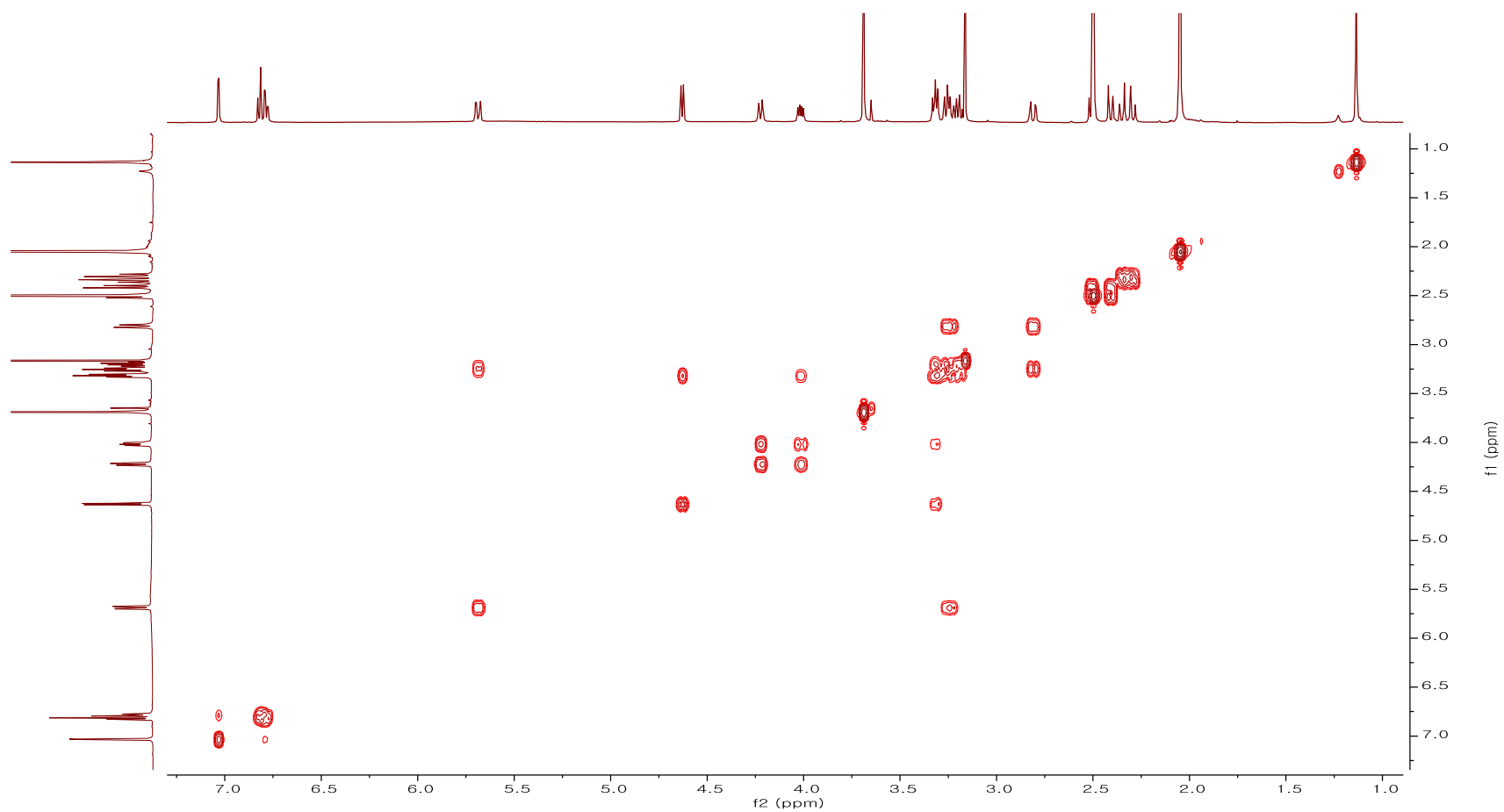


Figure S20. COSY spectrum of compound 7

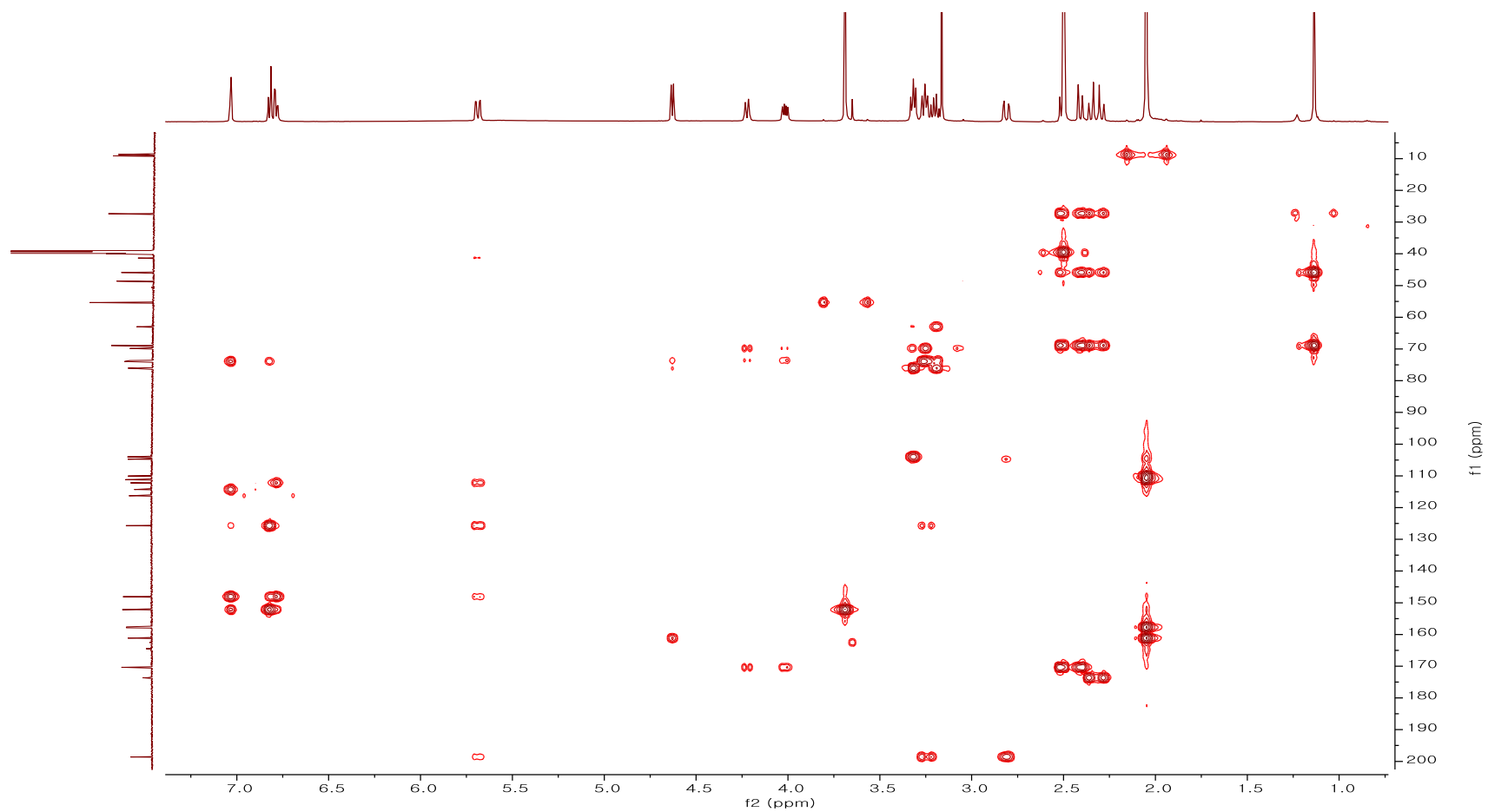


Figure S21. HMBC spectrum of compound 7

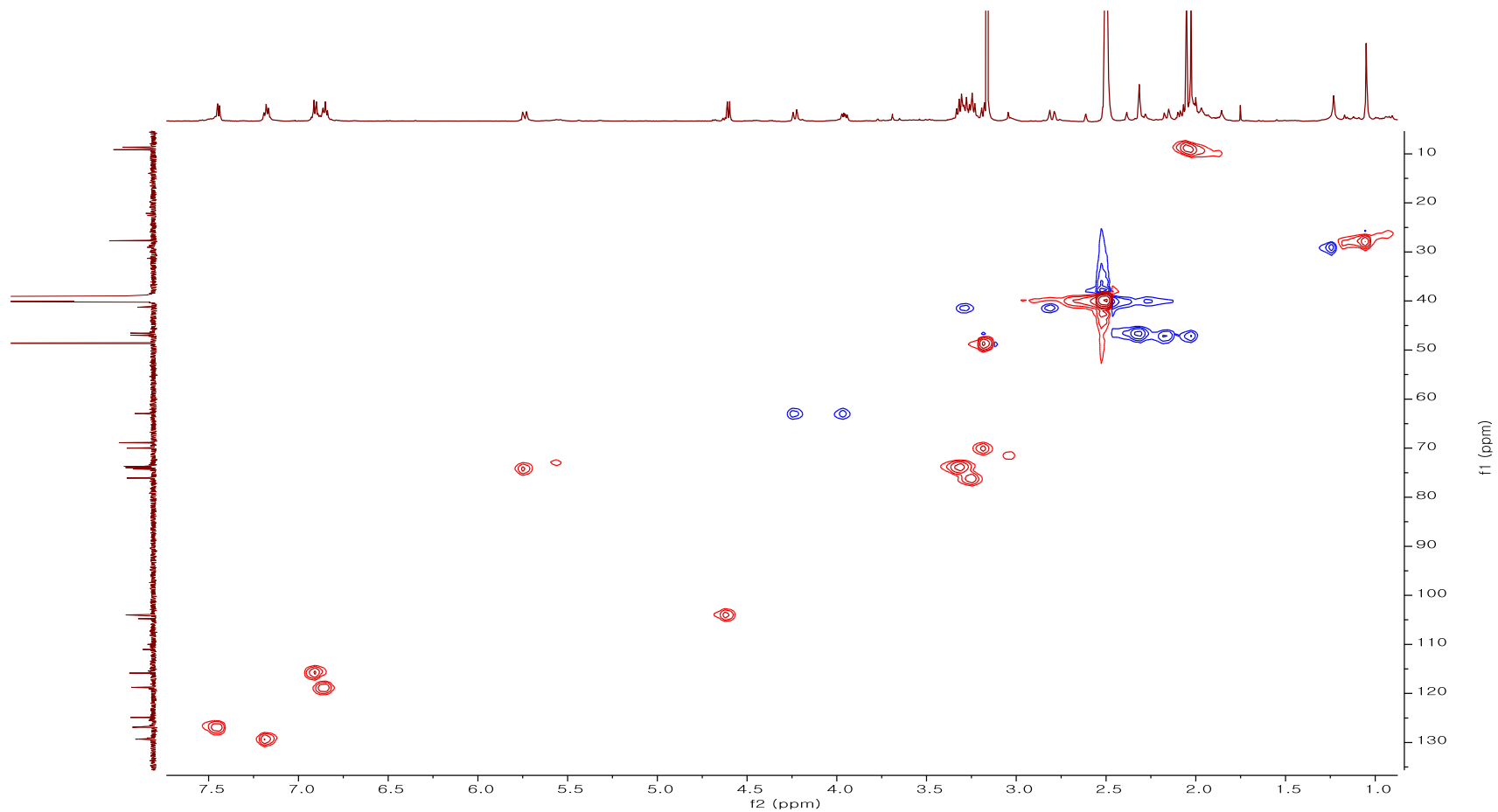


Figure S22. HSQC spectrum of compound 8

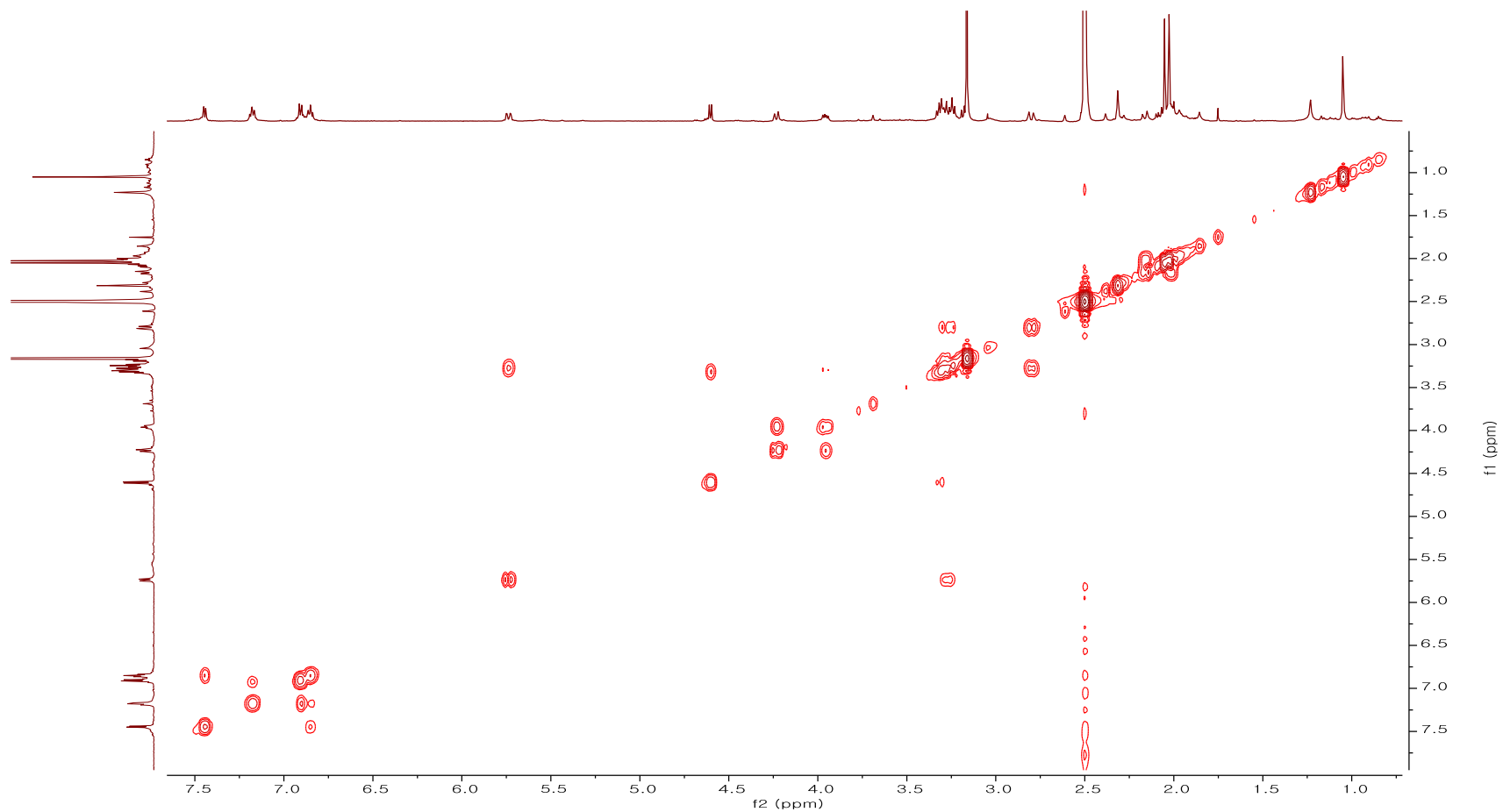


Figure S23. COSY spectrum of compound 8

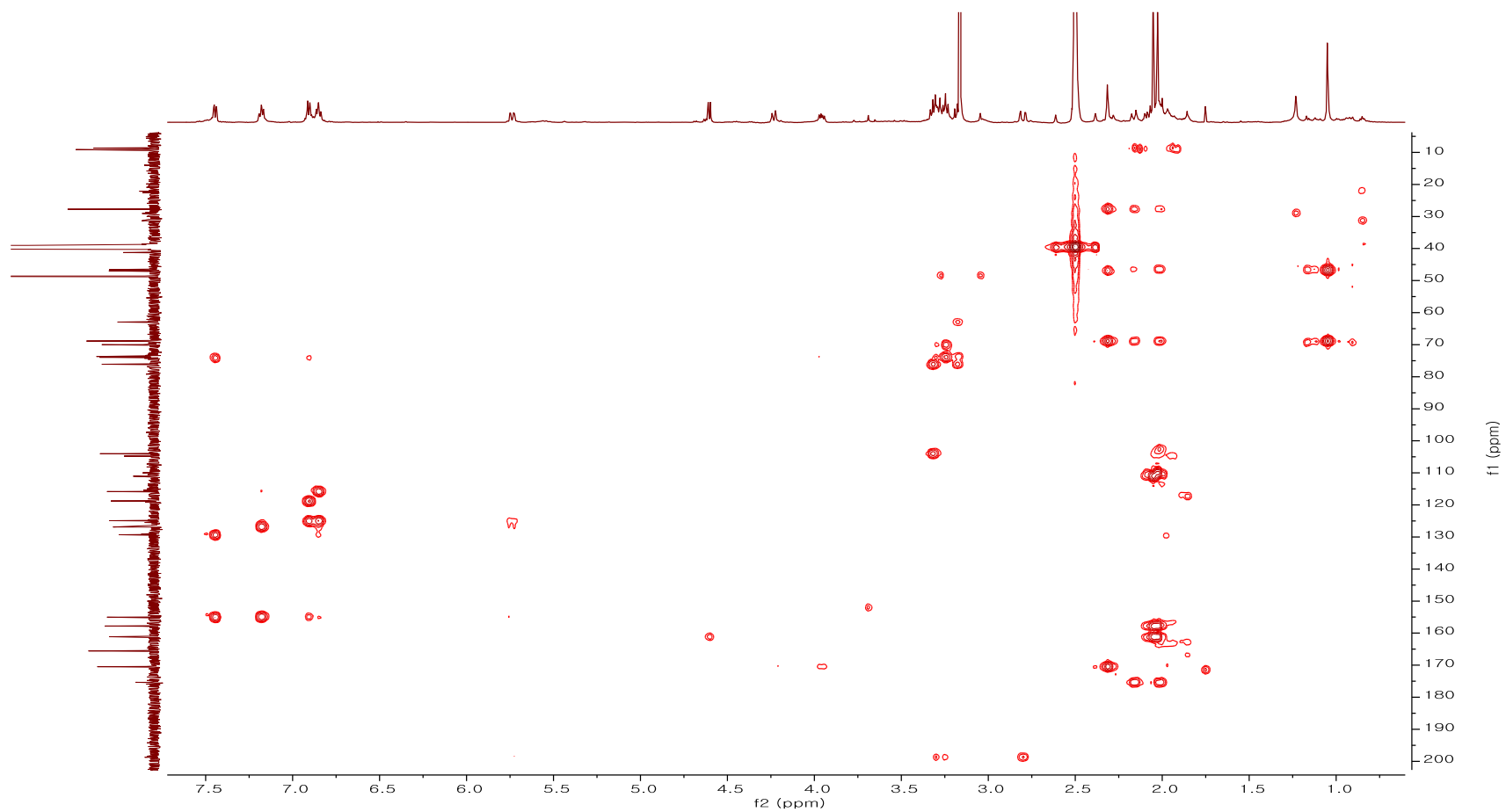


Figure S24. HMBC spectrum of compound 8

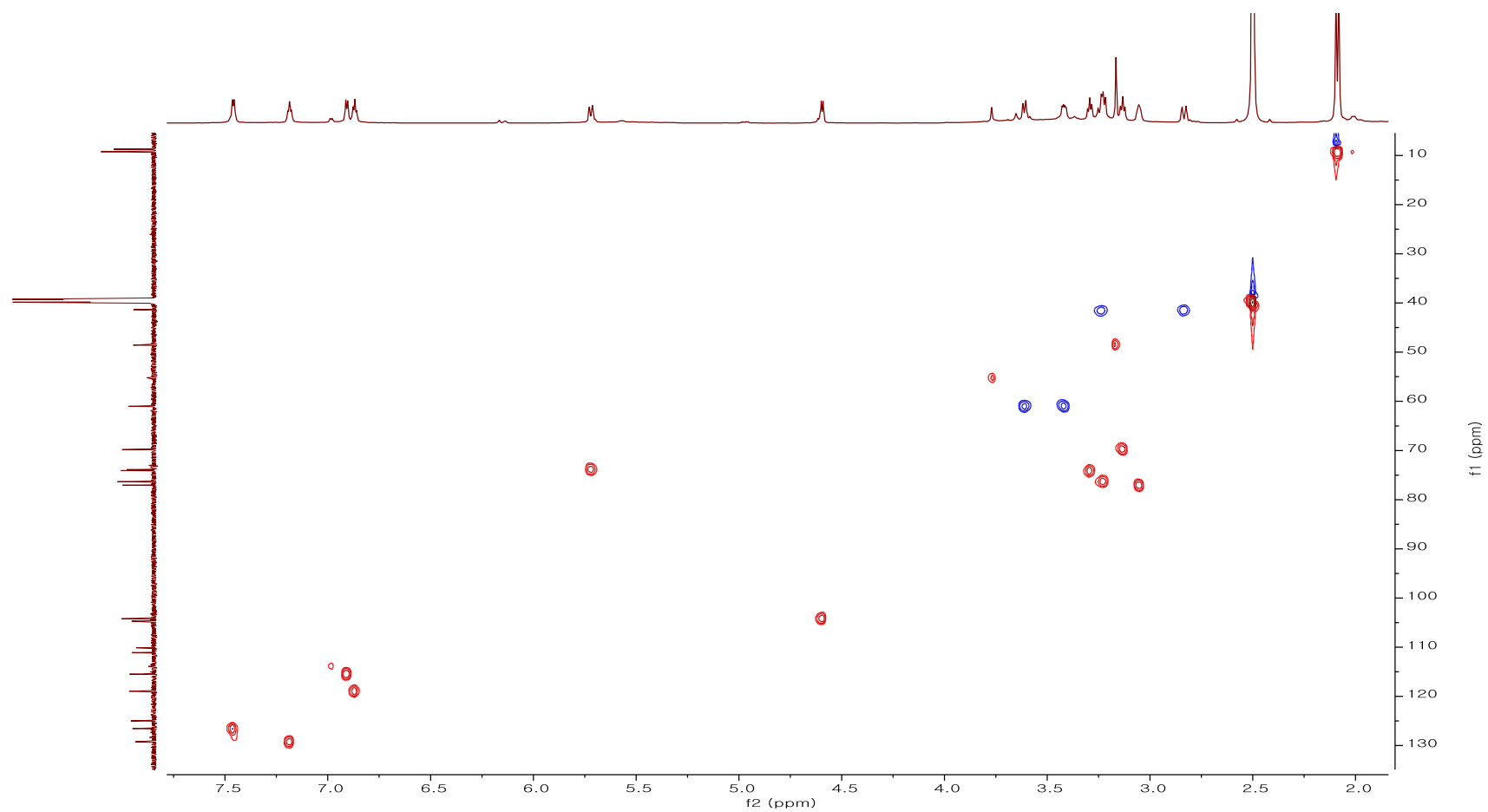


Figure S25. HSQC spectrum of compound **9**

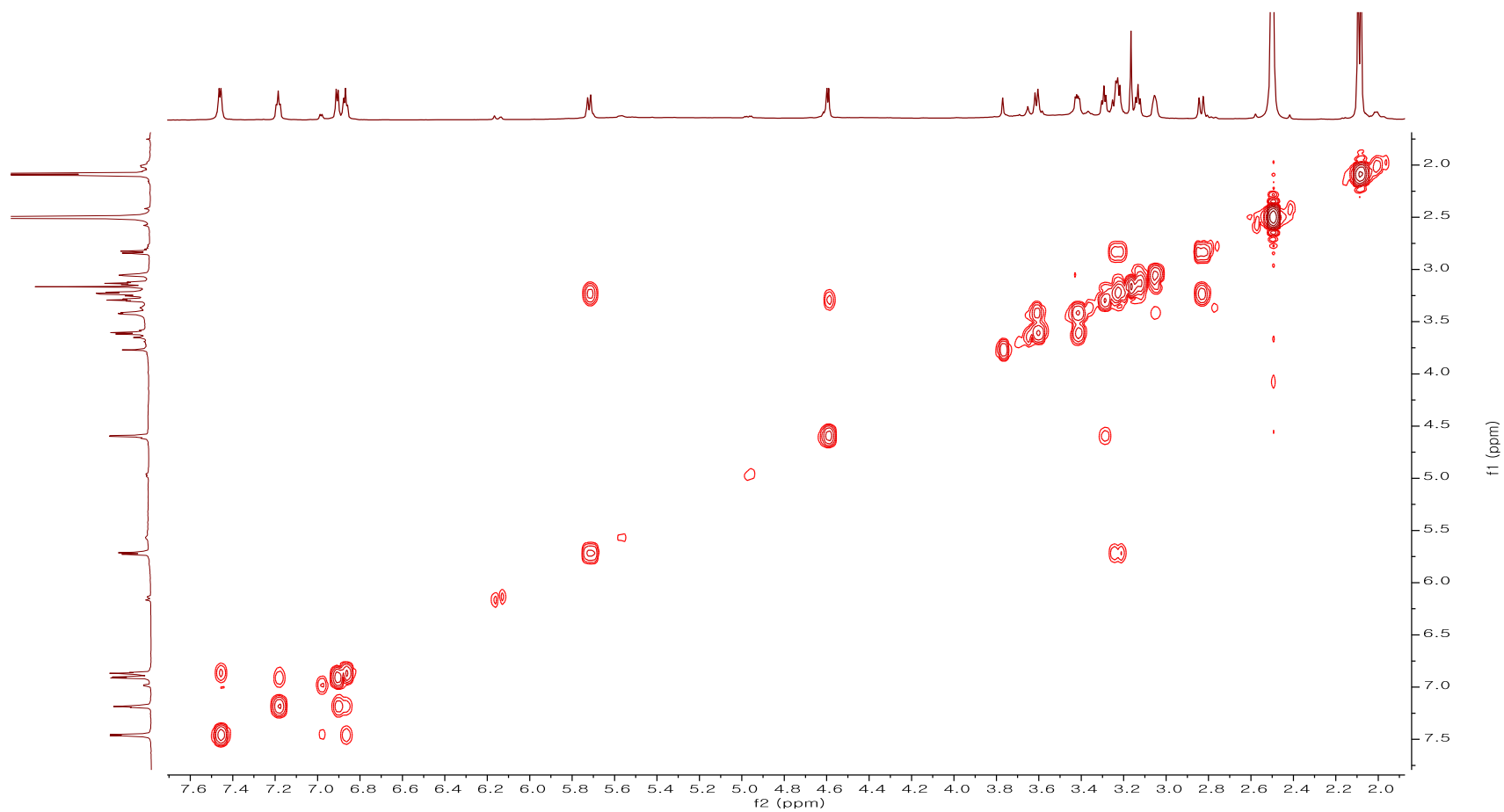


Figure S26. COSY spectrum of compound 9

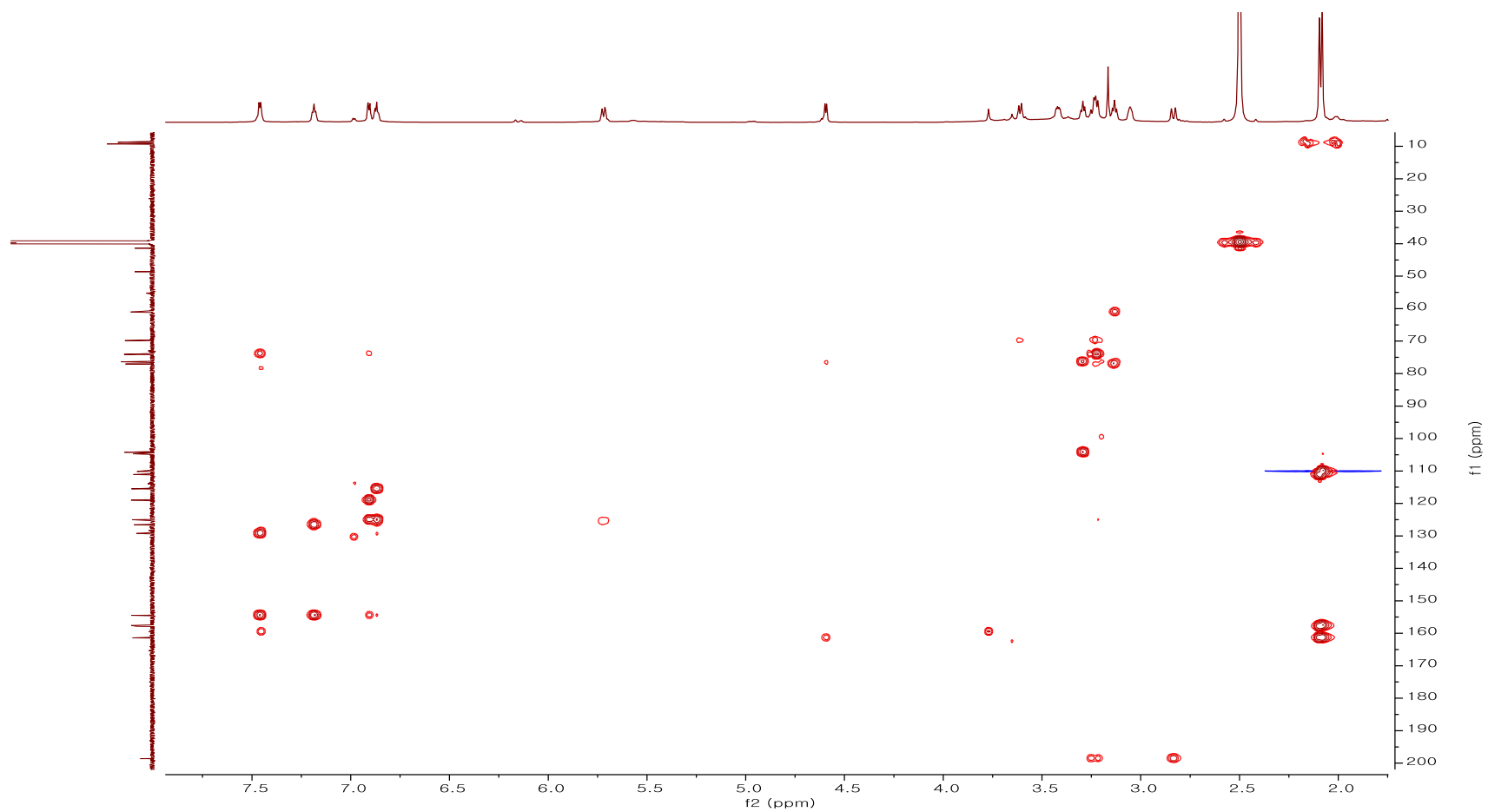


Figure S27. HMBC spectrum of compound 9

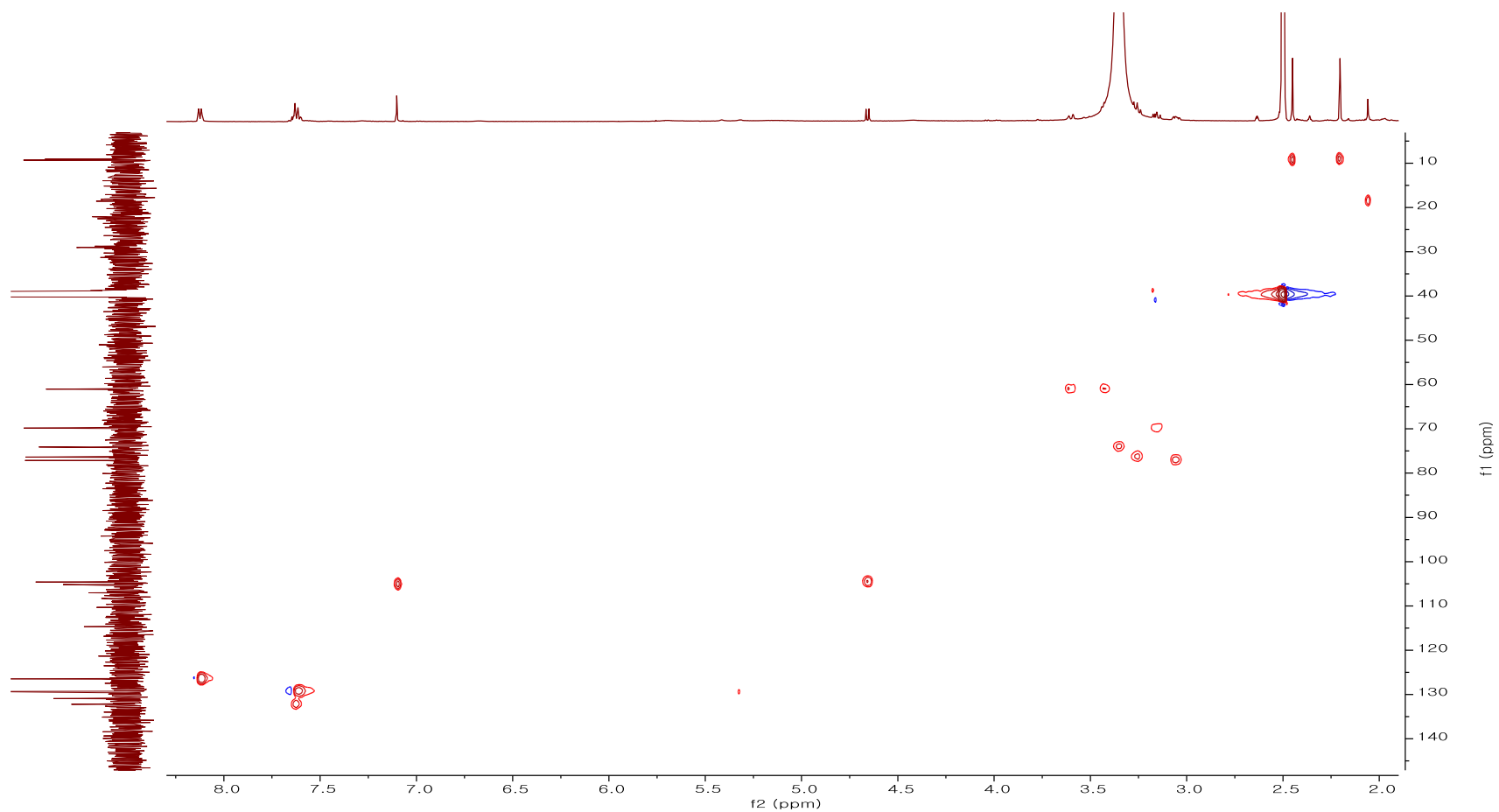


Figure S28. HSQC spectrum of compound 10

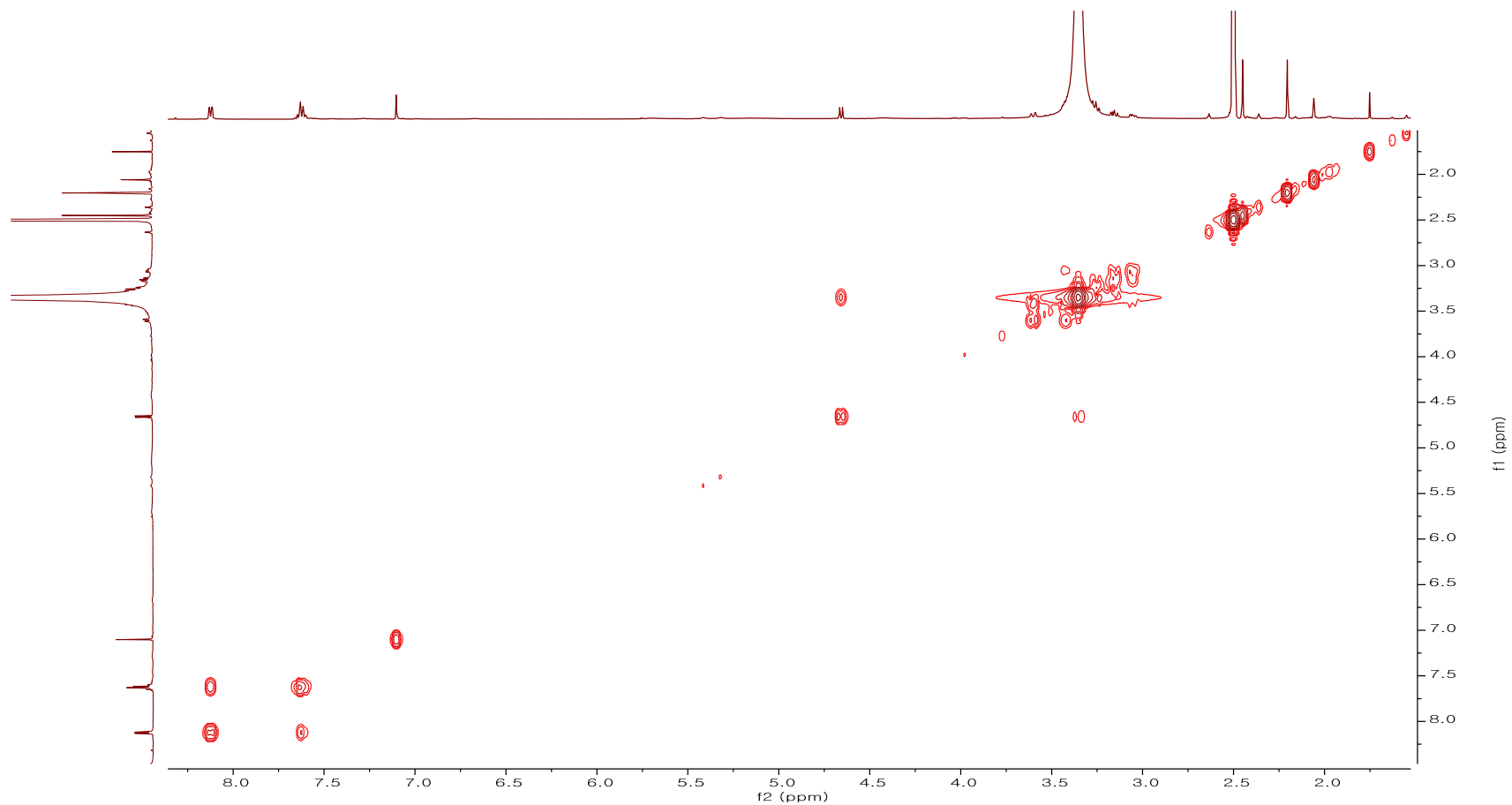


Figure S29. COSY spectrum of compound 10

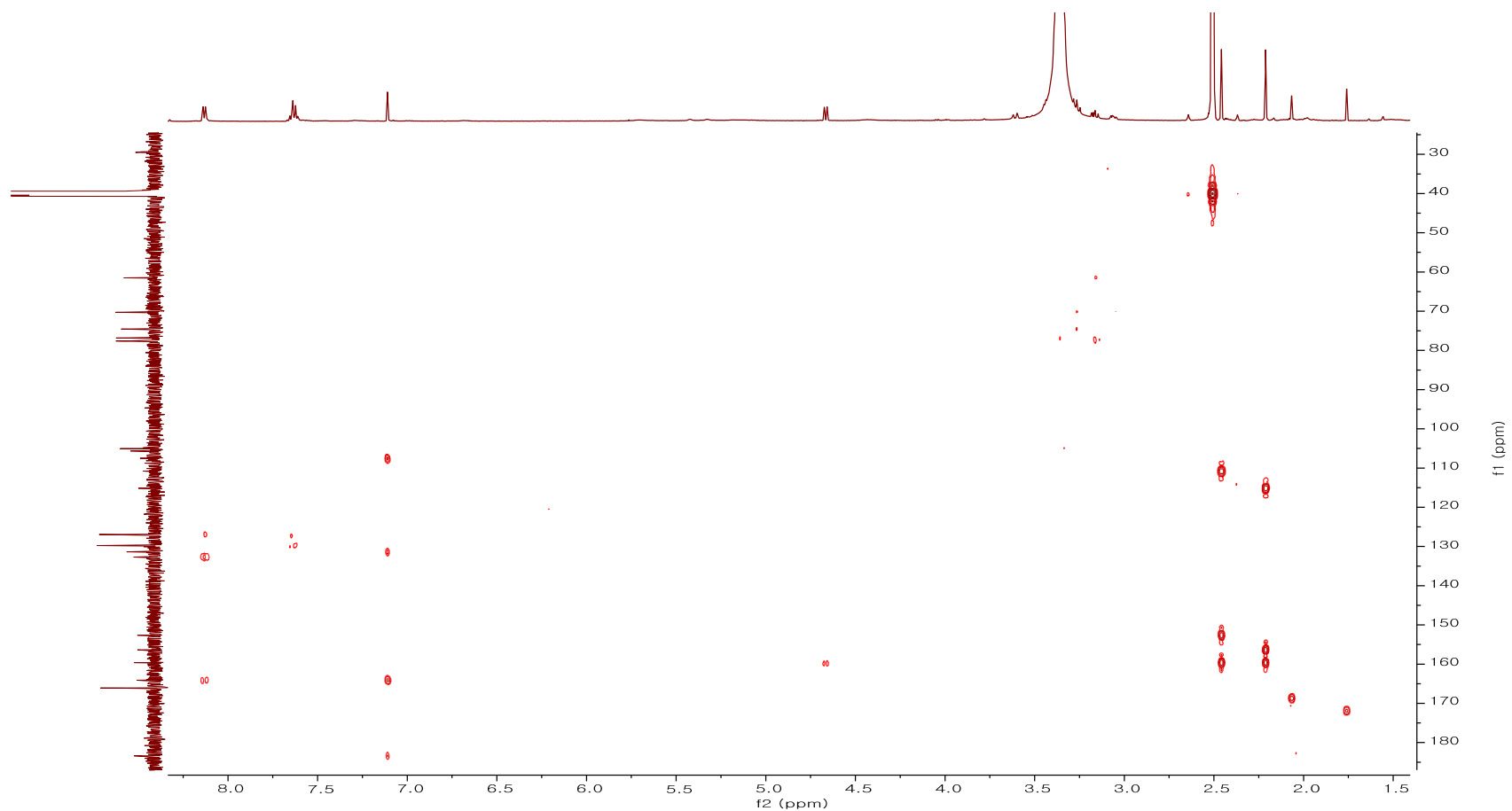


Figure S30. HMBC spectrum of compound 10

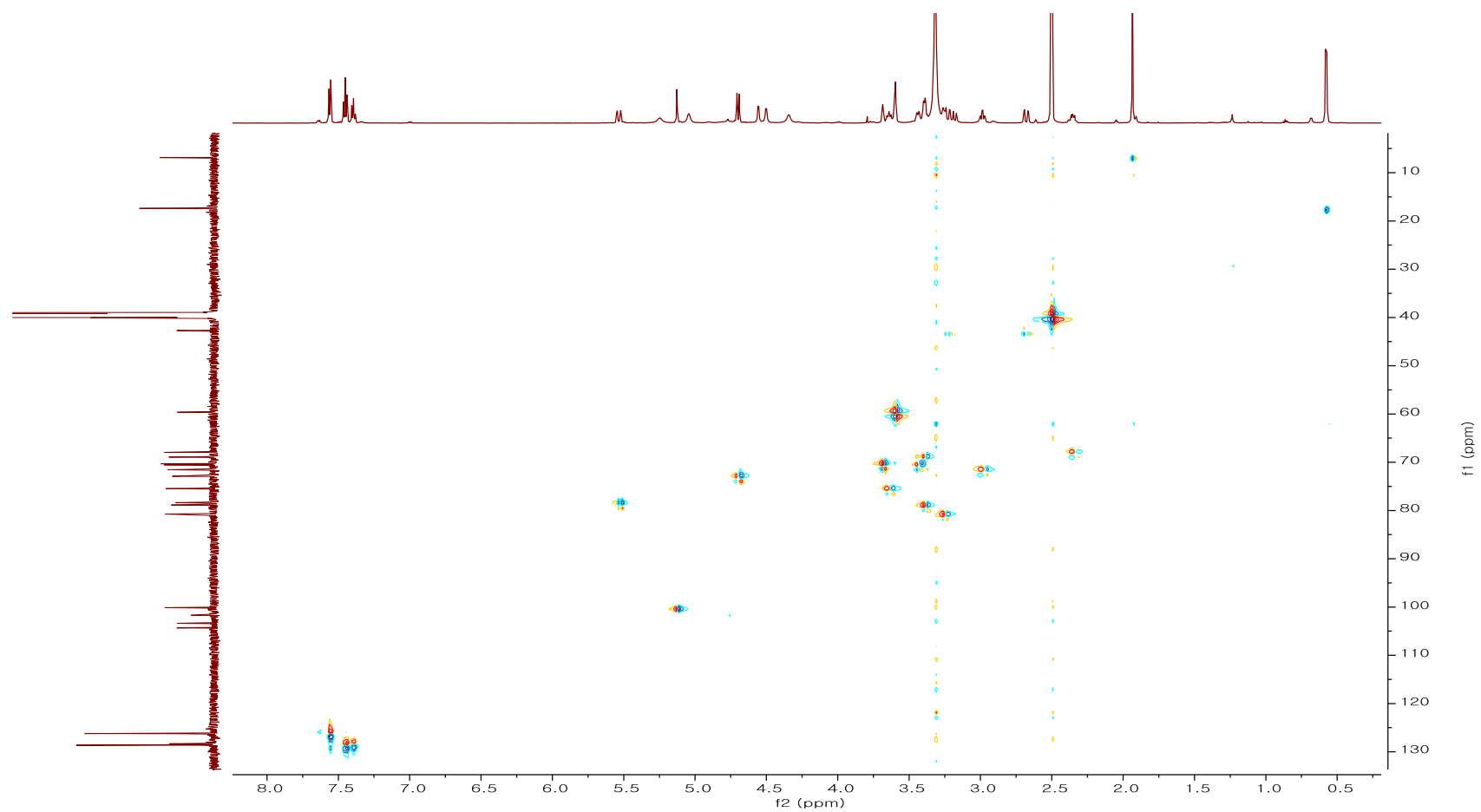


Figure S31. HSQC spectrum of compound 11

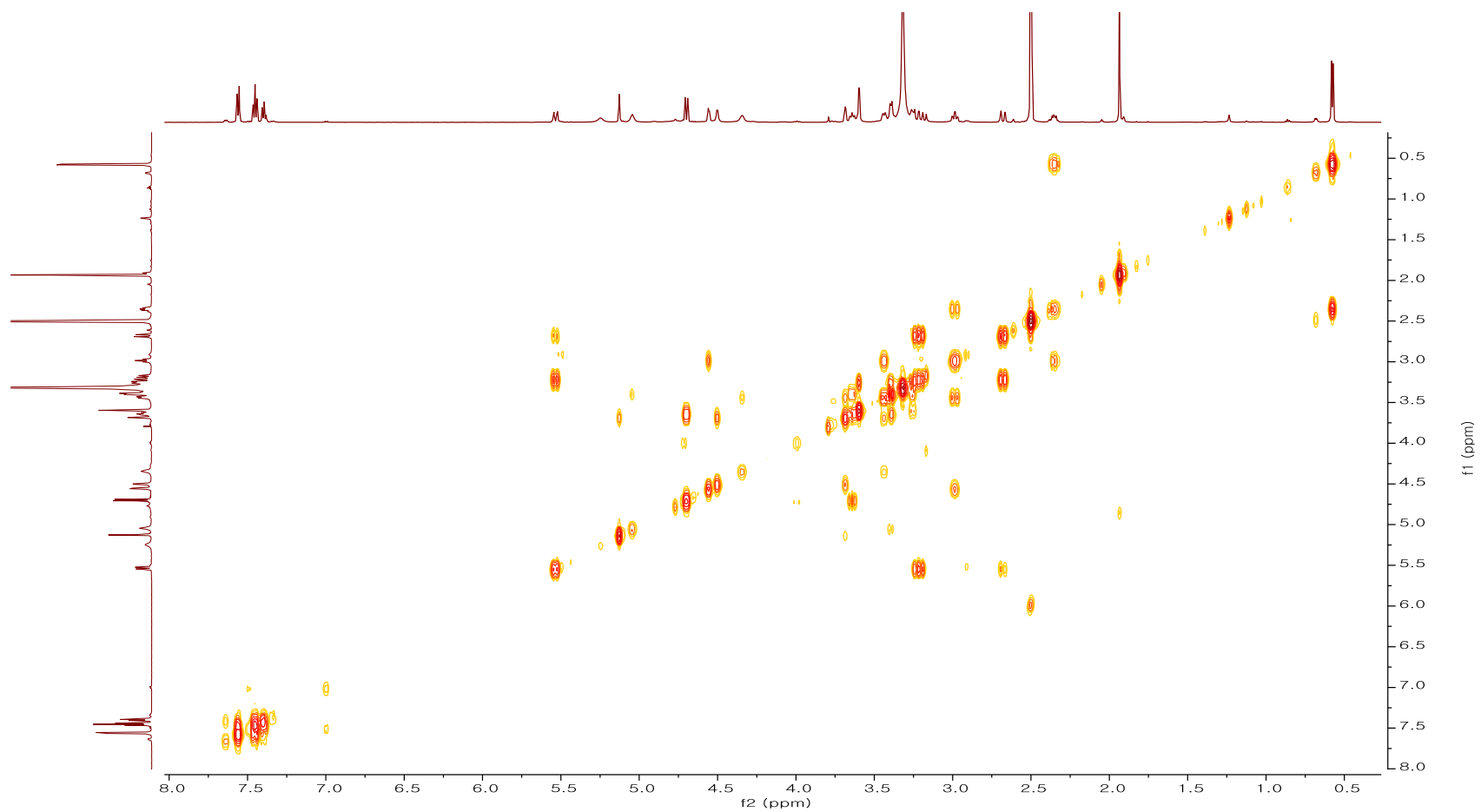


Figure S32. COSY spectrum of compound 11

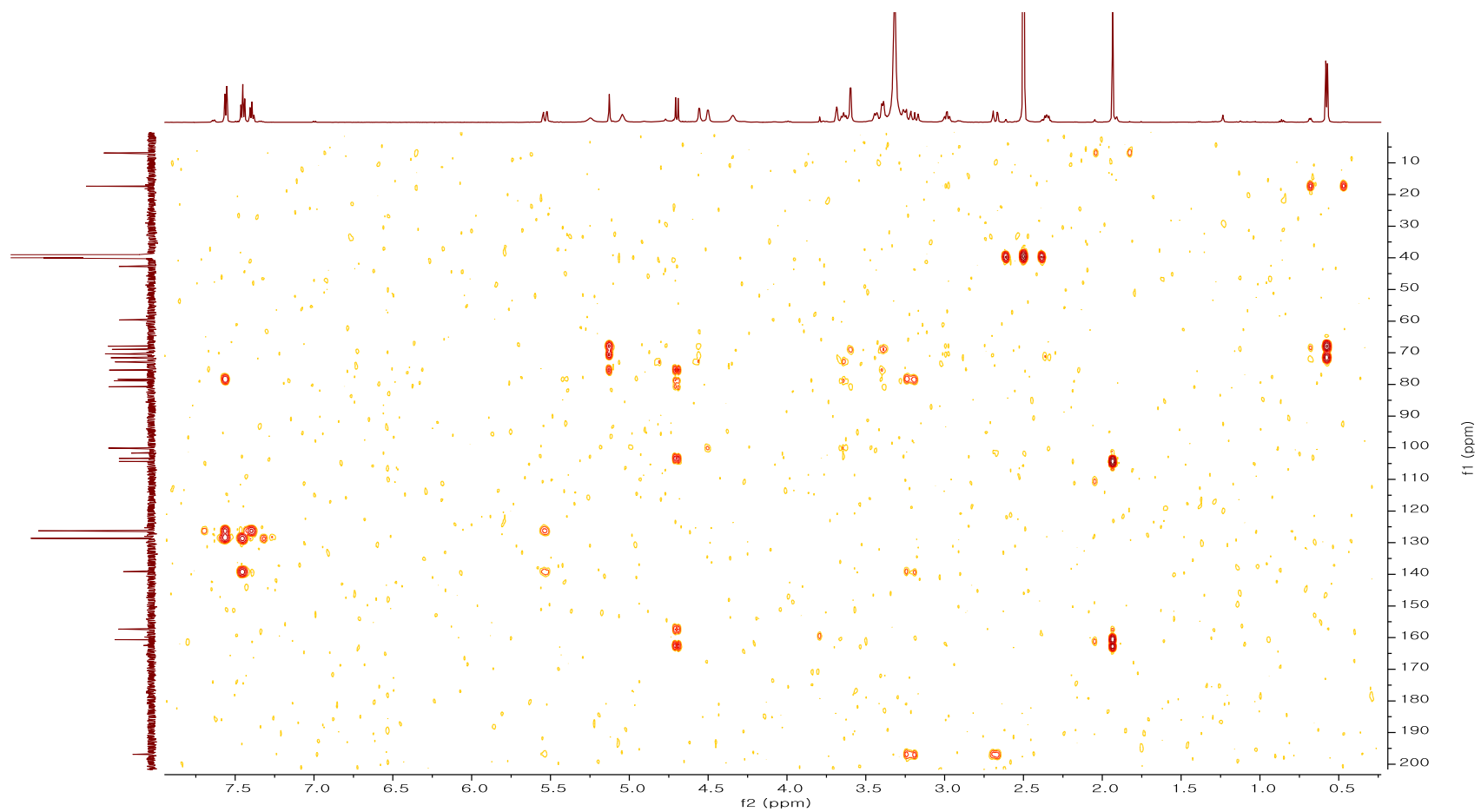


Figure S33. HMBC spectrum of compound 11

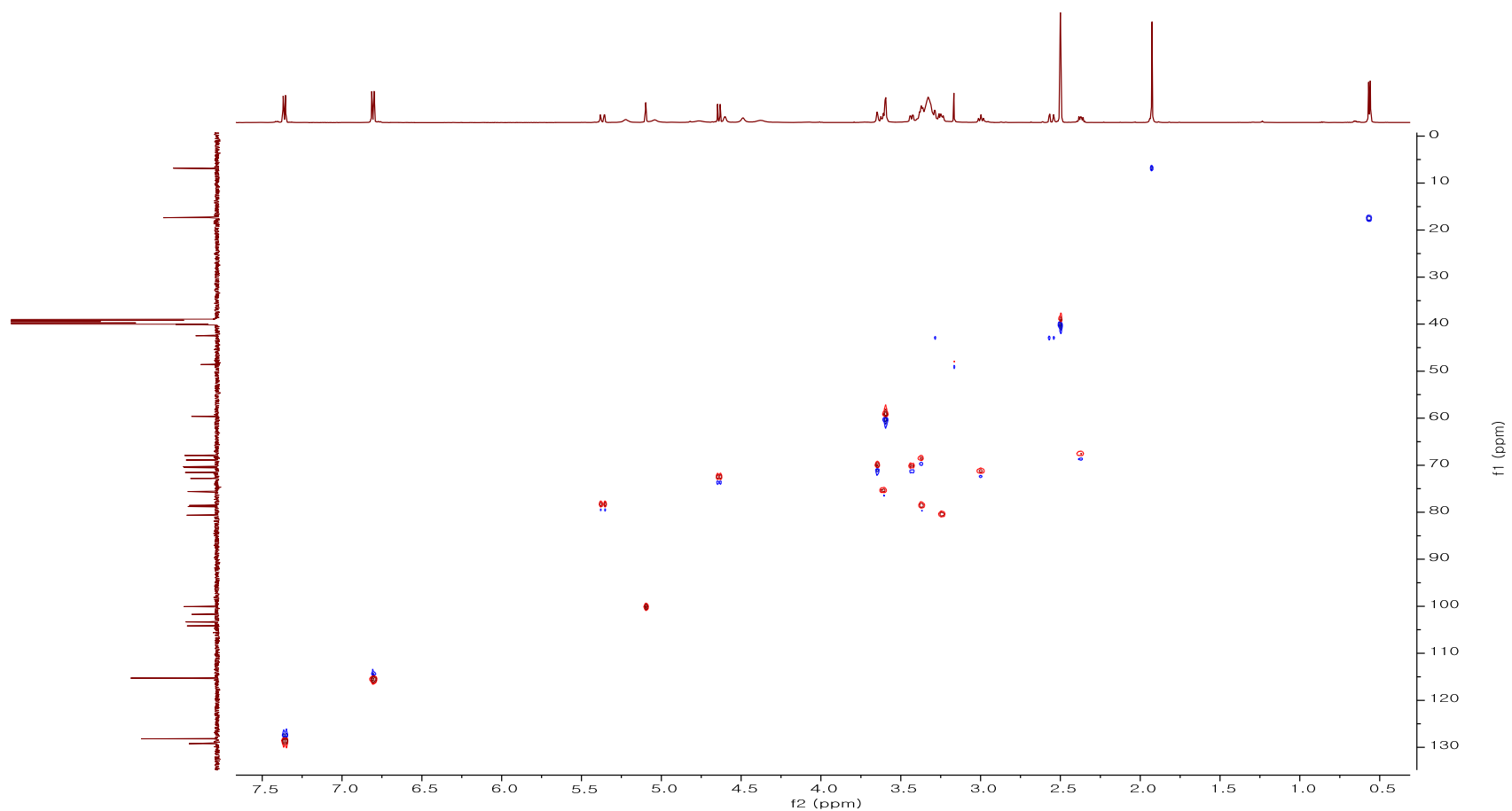


Figure S34. HSQC spectrum of compound 12

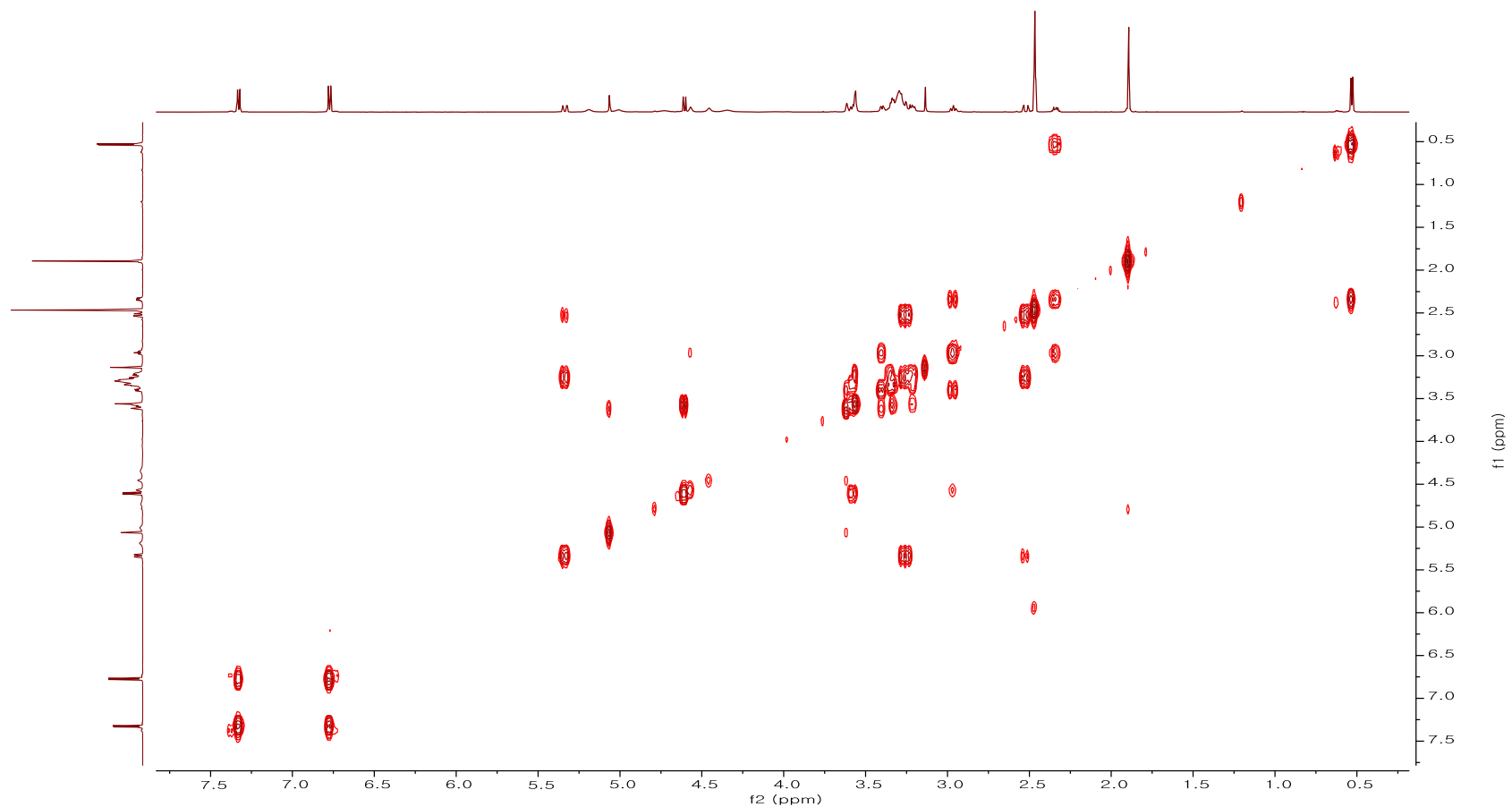


Figure S35. COSY spectrum of compound 12

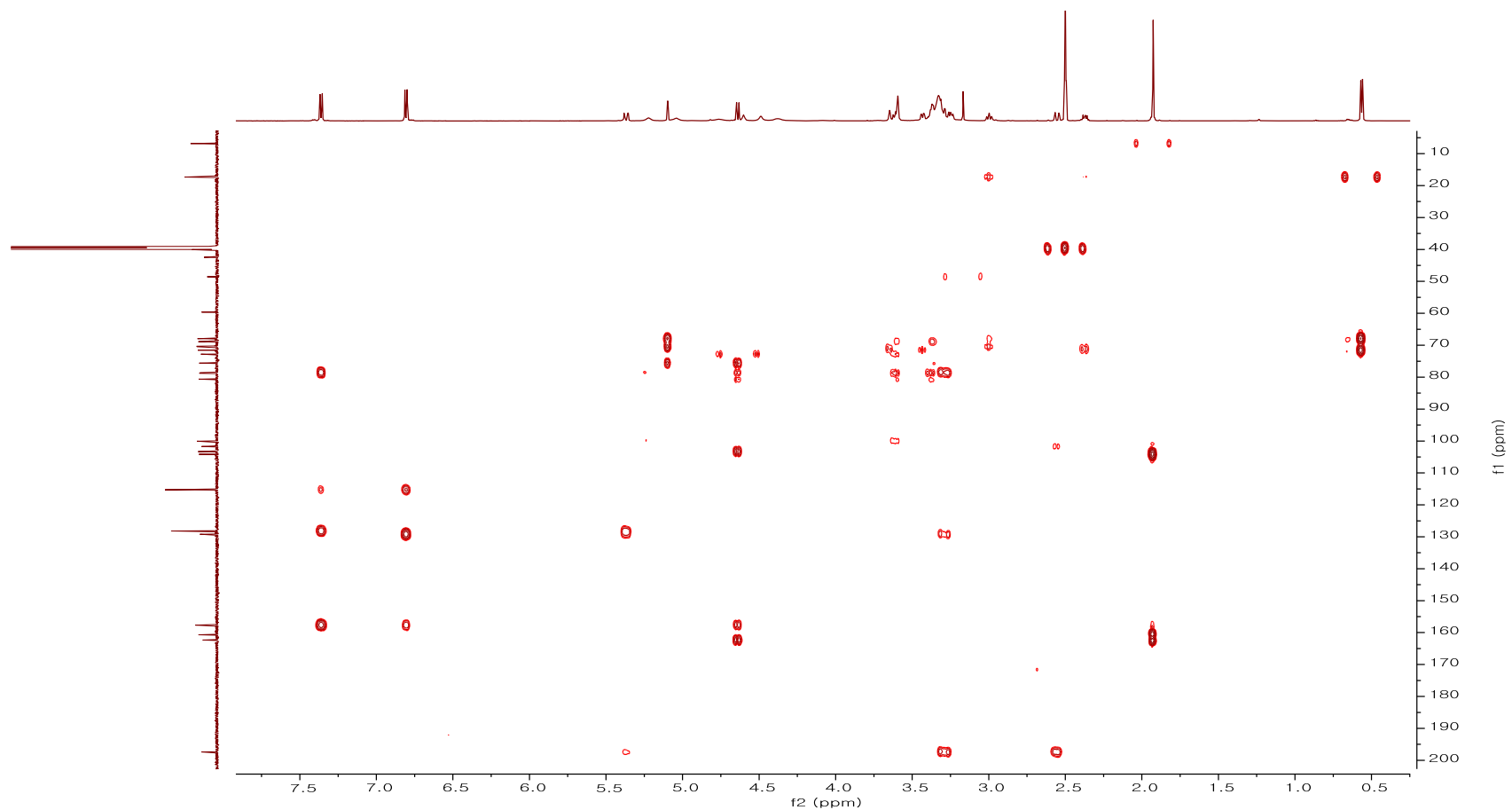


Figure S36. HMBC spectrum of compound 12

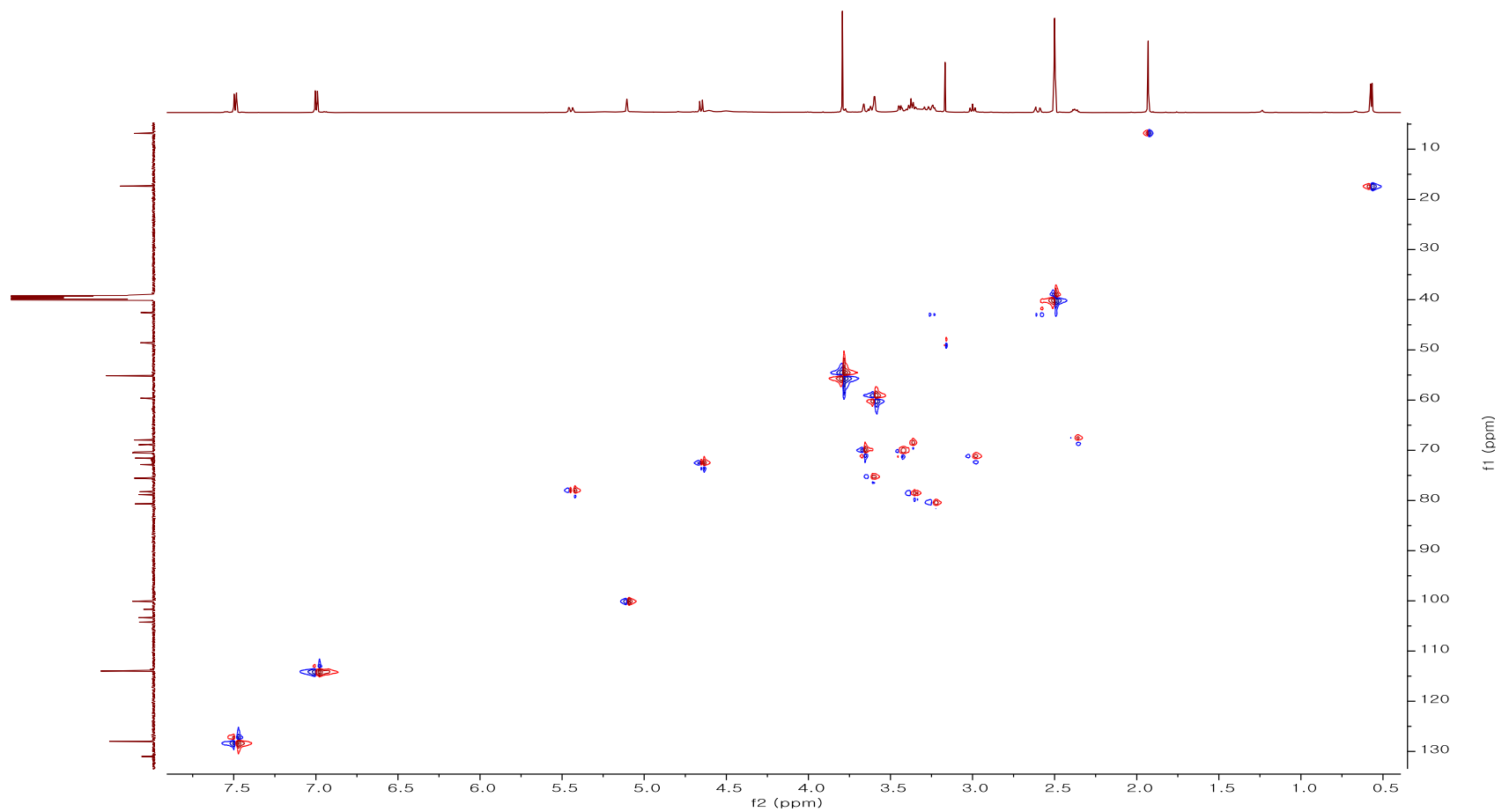


Figure S37. HSQC spectrum of compound 13

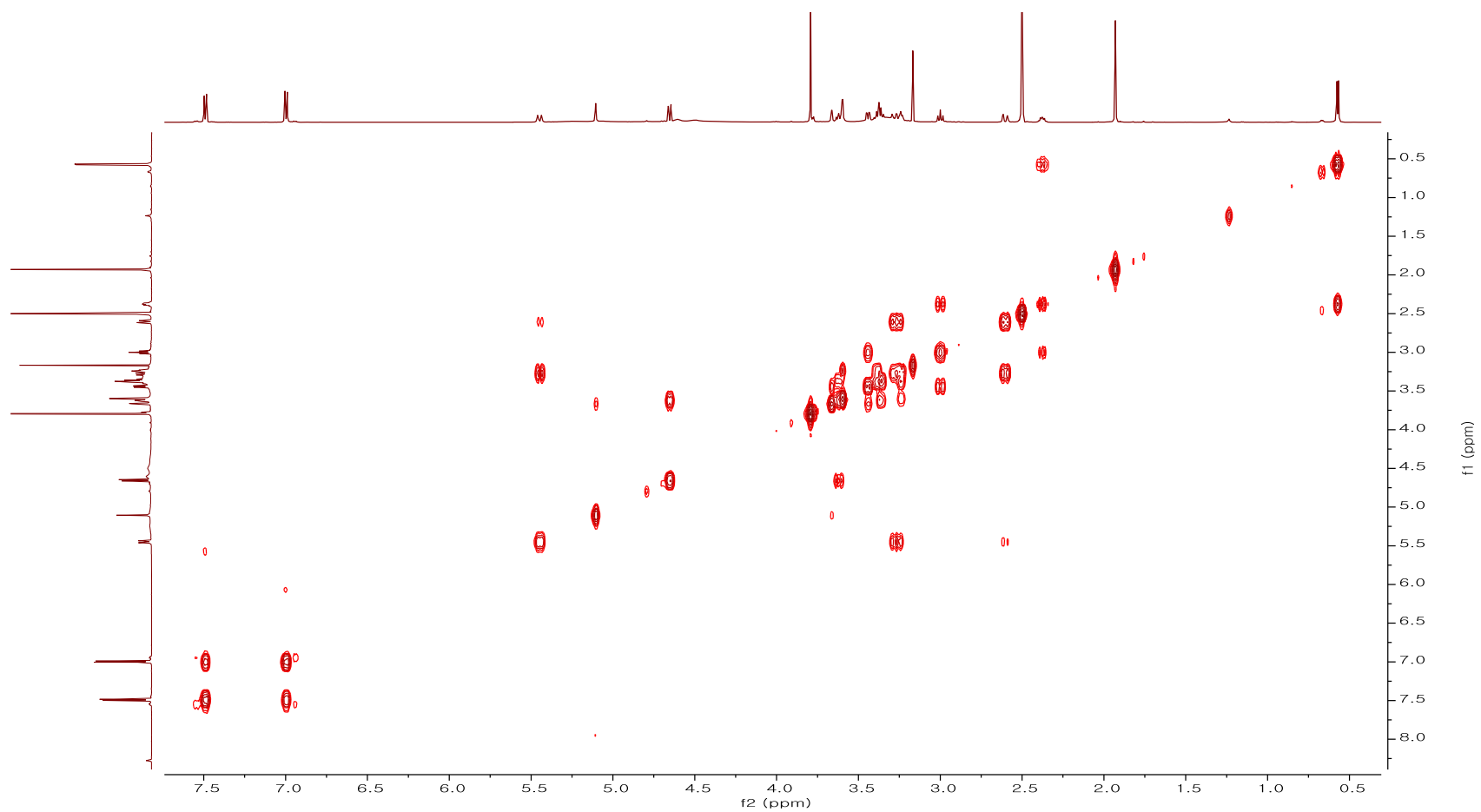


Figure S38. COSY spectrum of compound 13

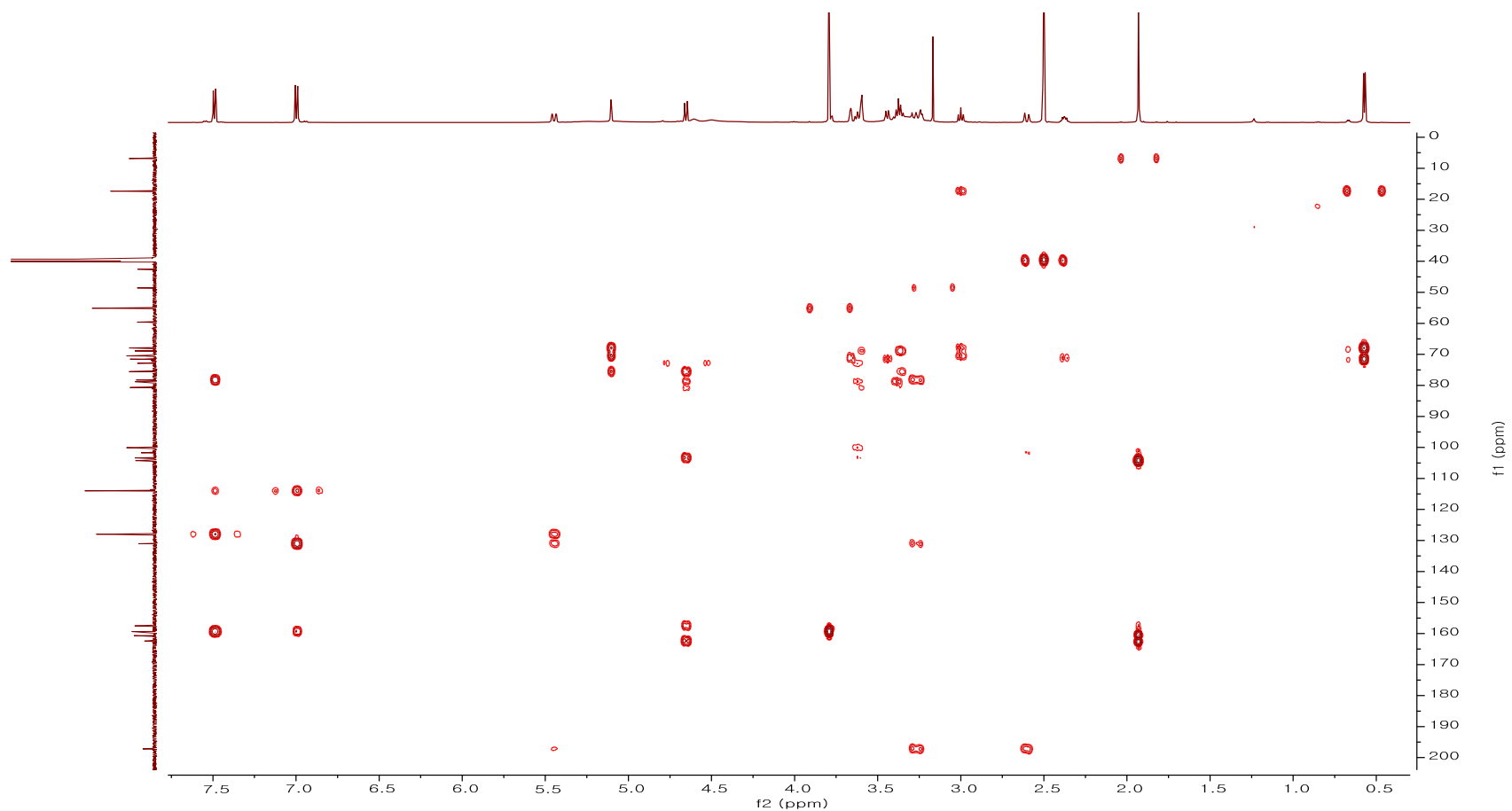


Figure S39. HMBC spectrum of compound 13

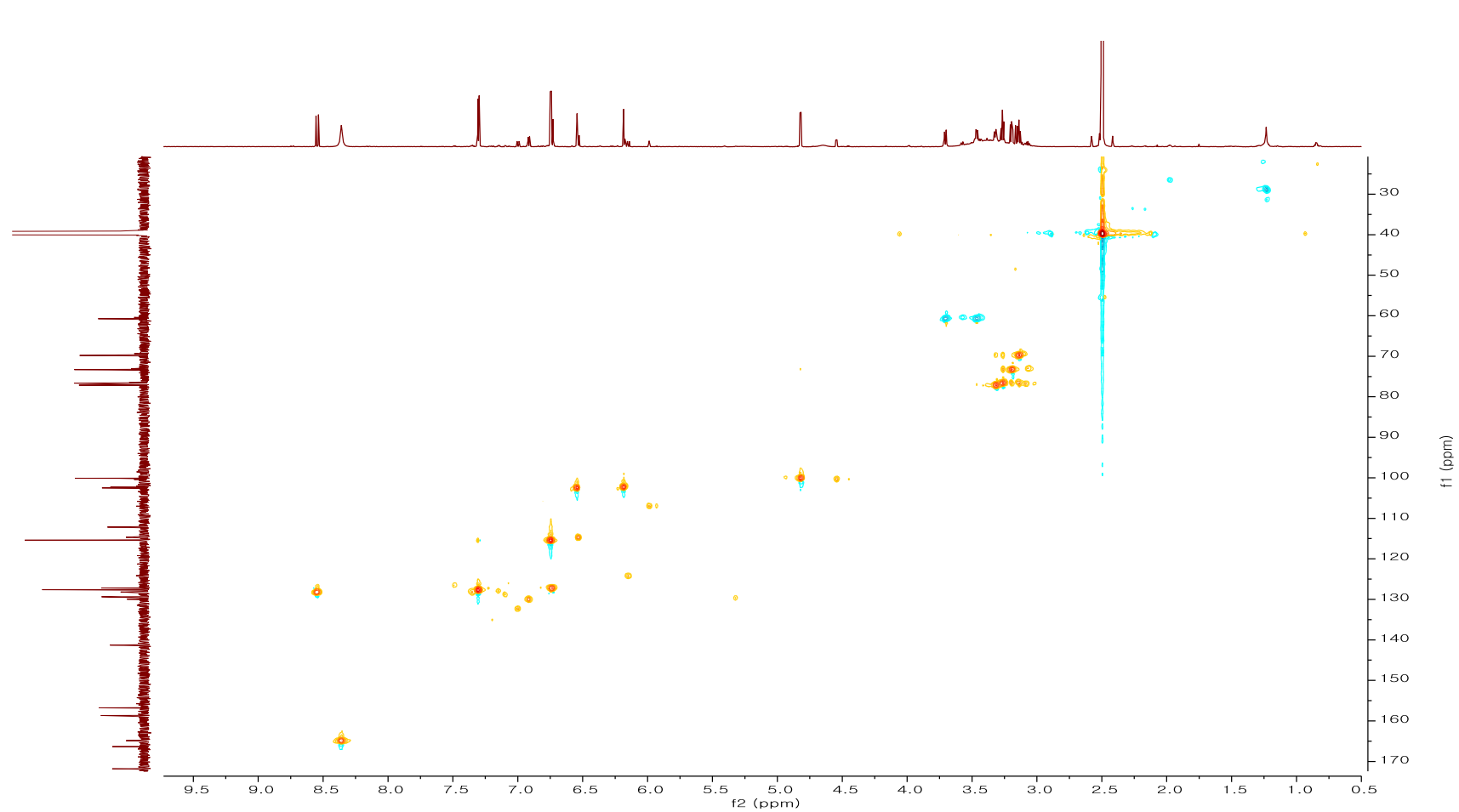


Figure S40. HSQC spectrum of compound 31

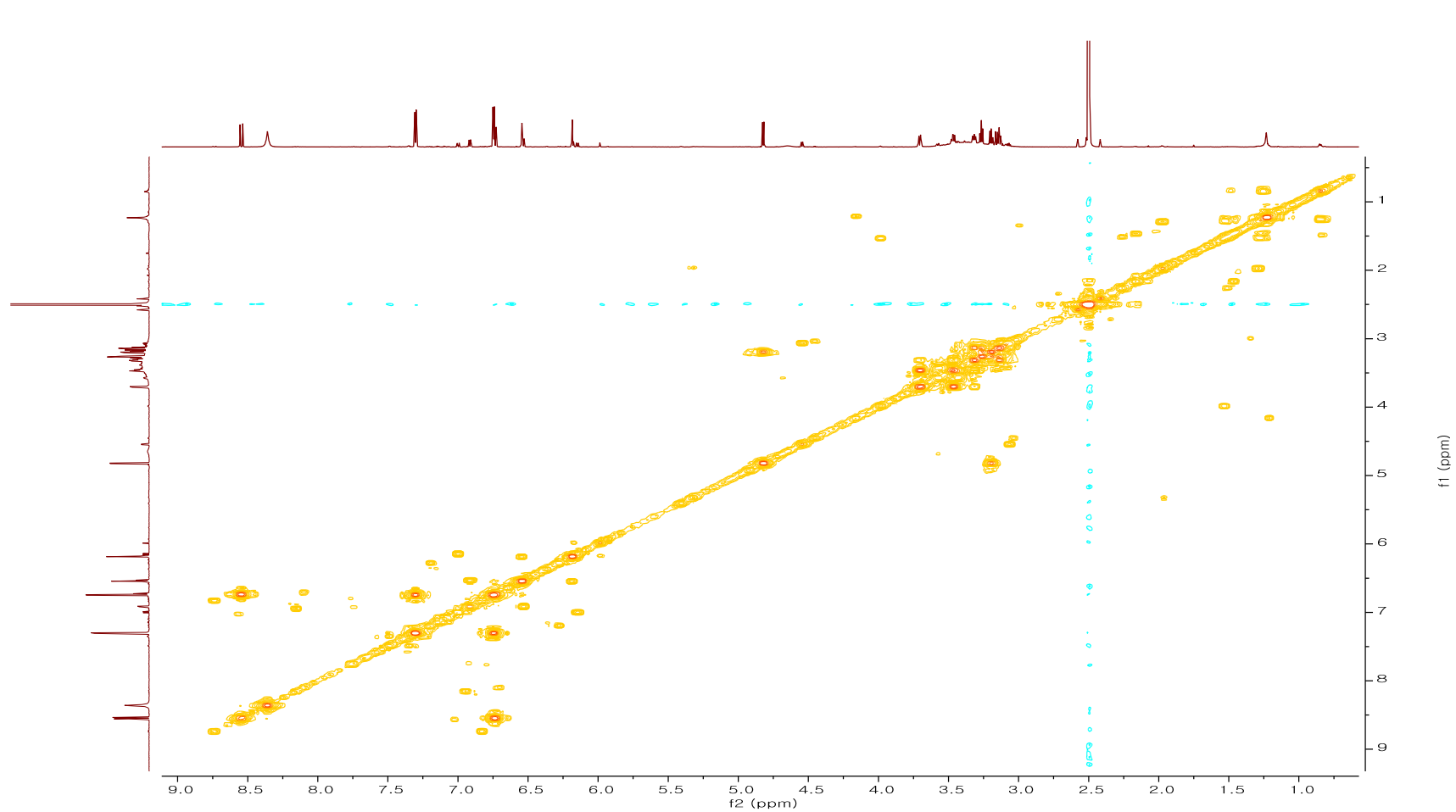


Figure S41. COSY spectrum of compound 31

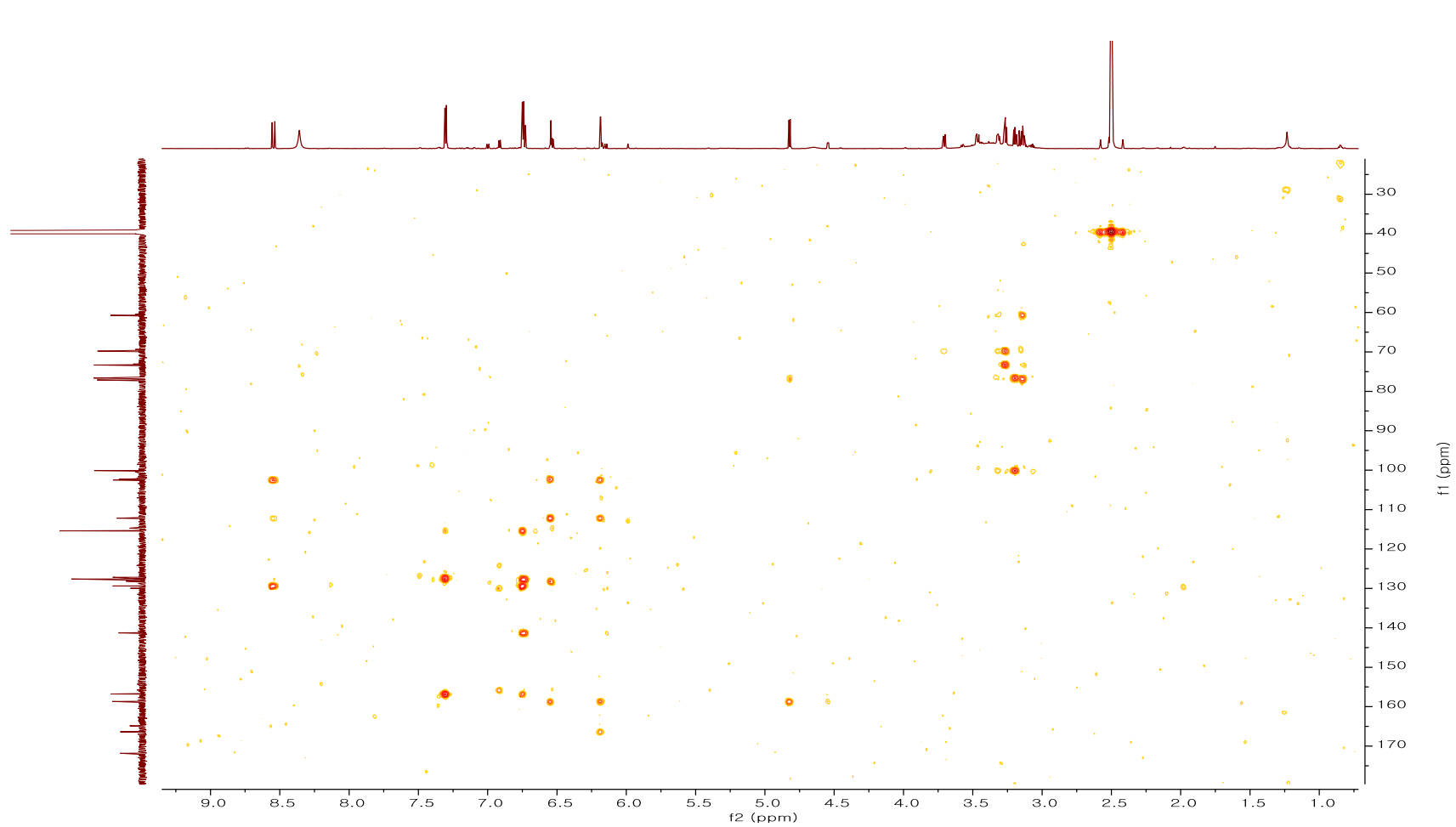


Figure S42. HMBC spectrum of compound 31

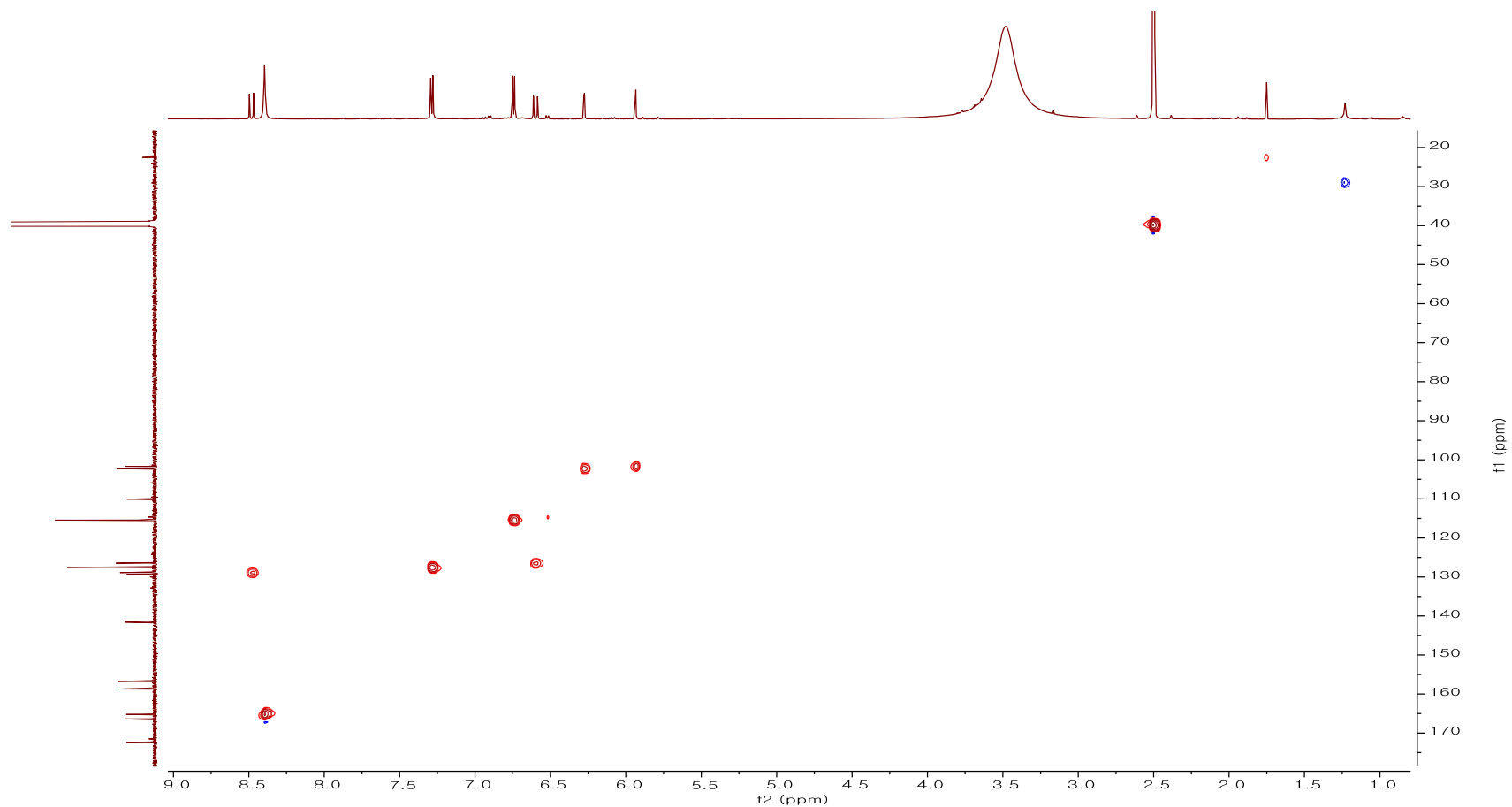


Figure S43. HSQC spectrum of compound 32

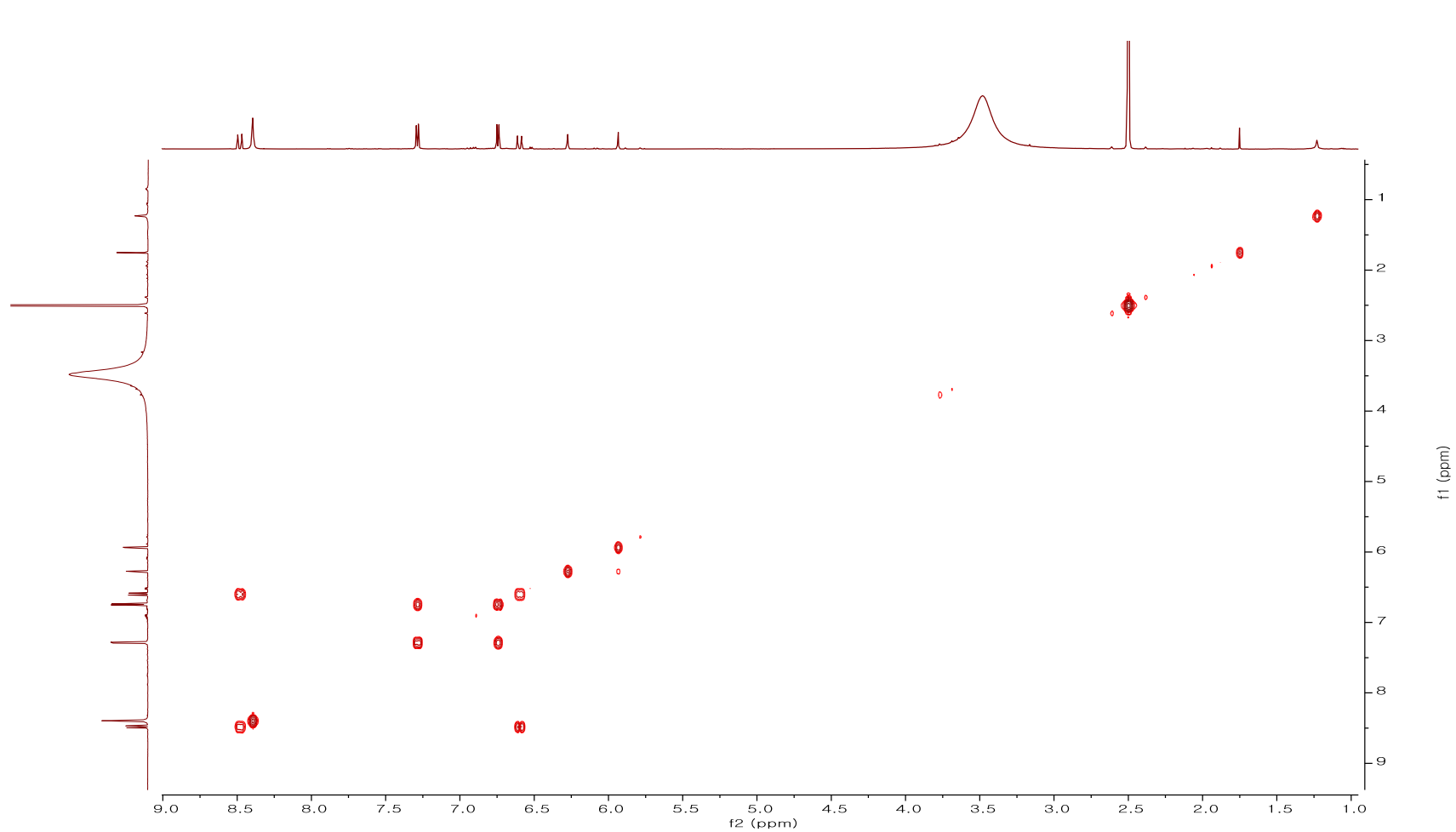


Figure S44. COSY spectrum of compound 32

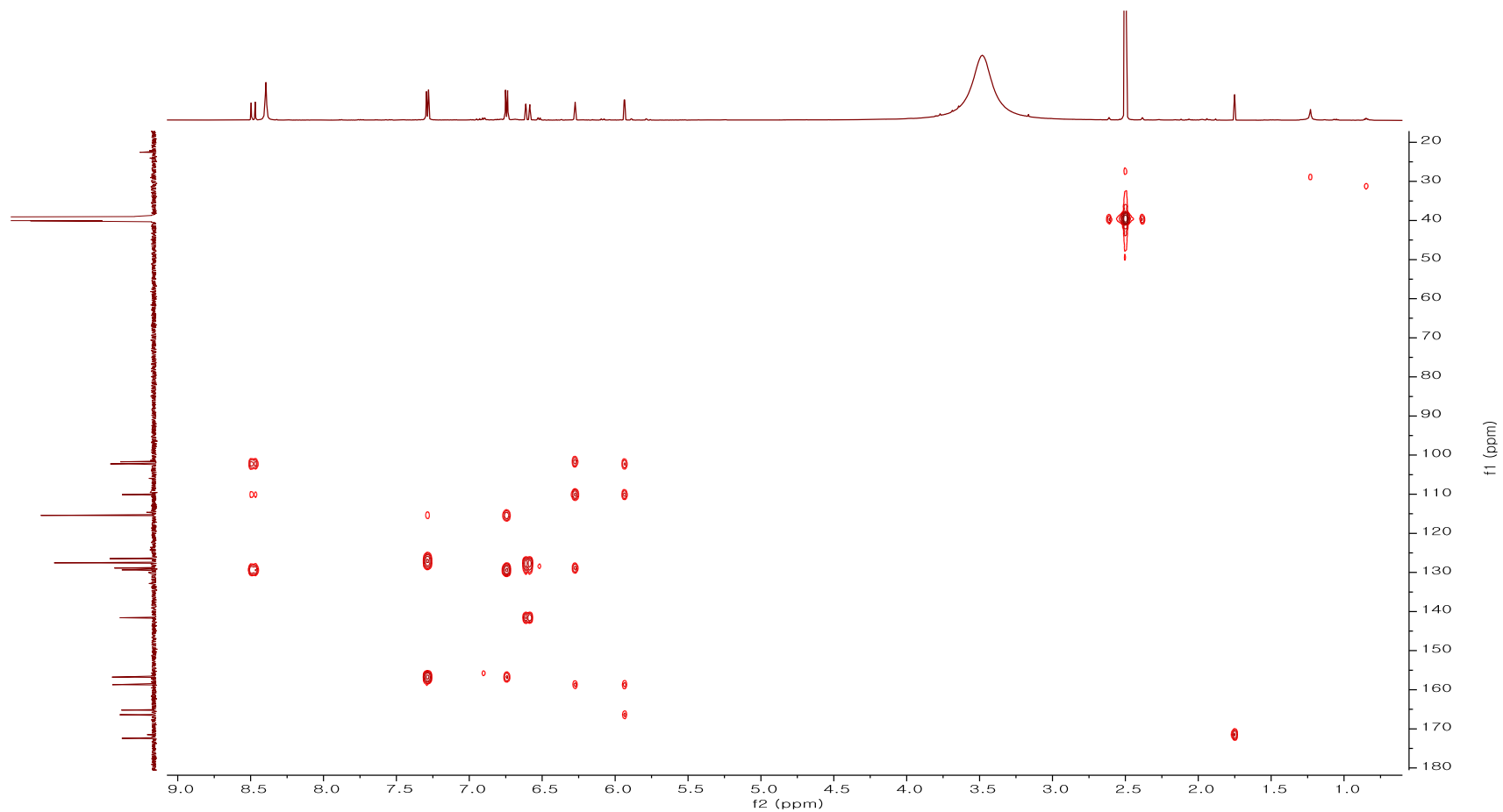


Figure S45. HMBC spectrum of compound 32

Part 2. Dilignans from *Forsythia viridissima* and their
antiviral activities

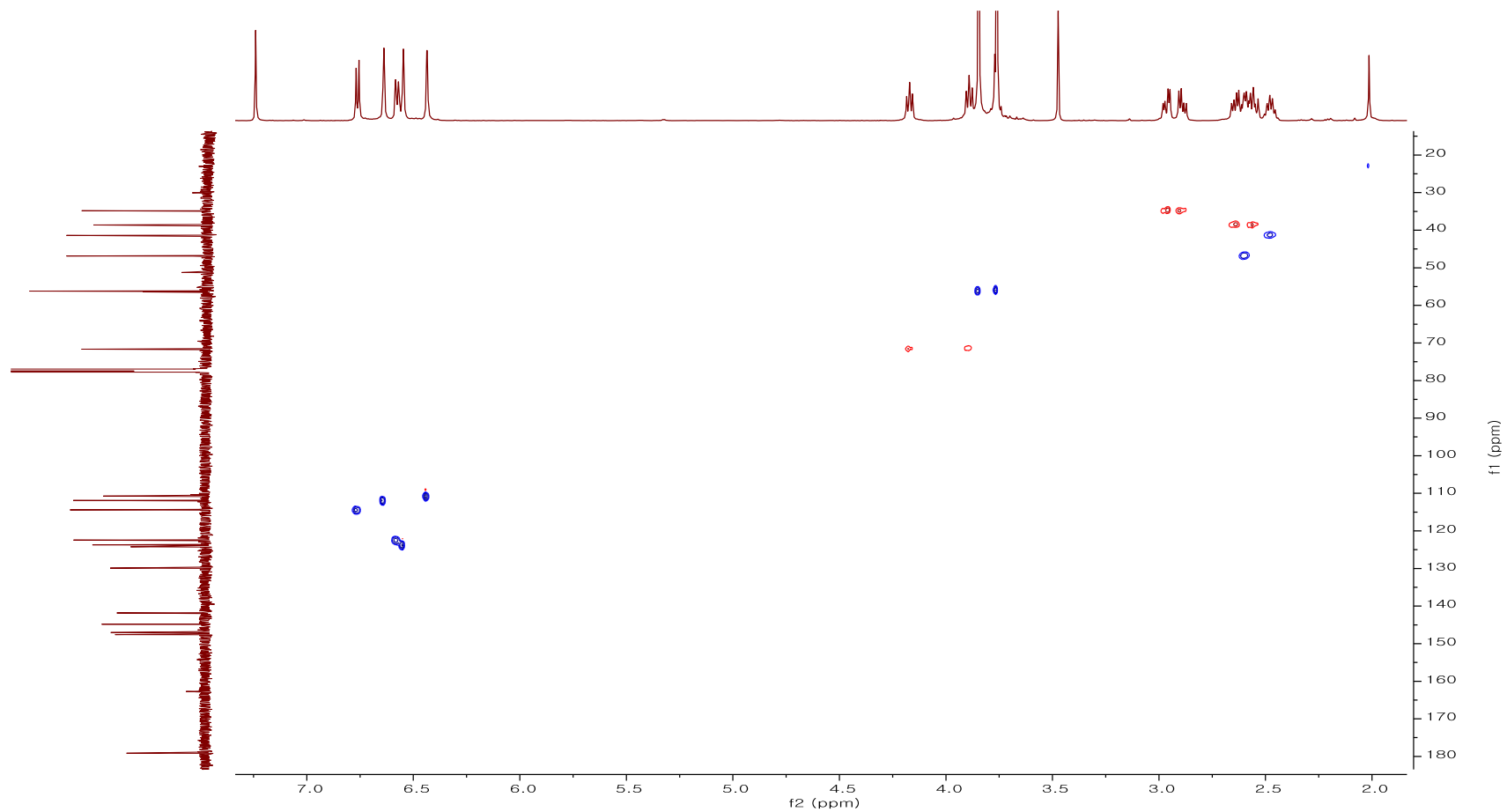


Figure S46. HSQC spectrum of compound 1

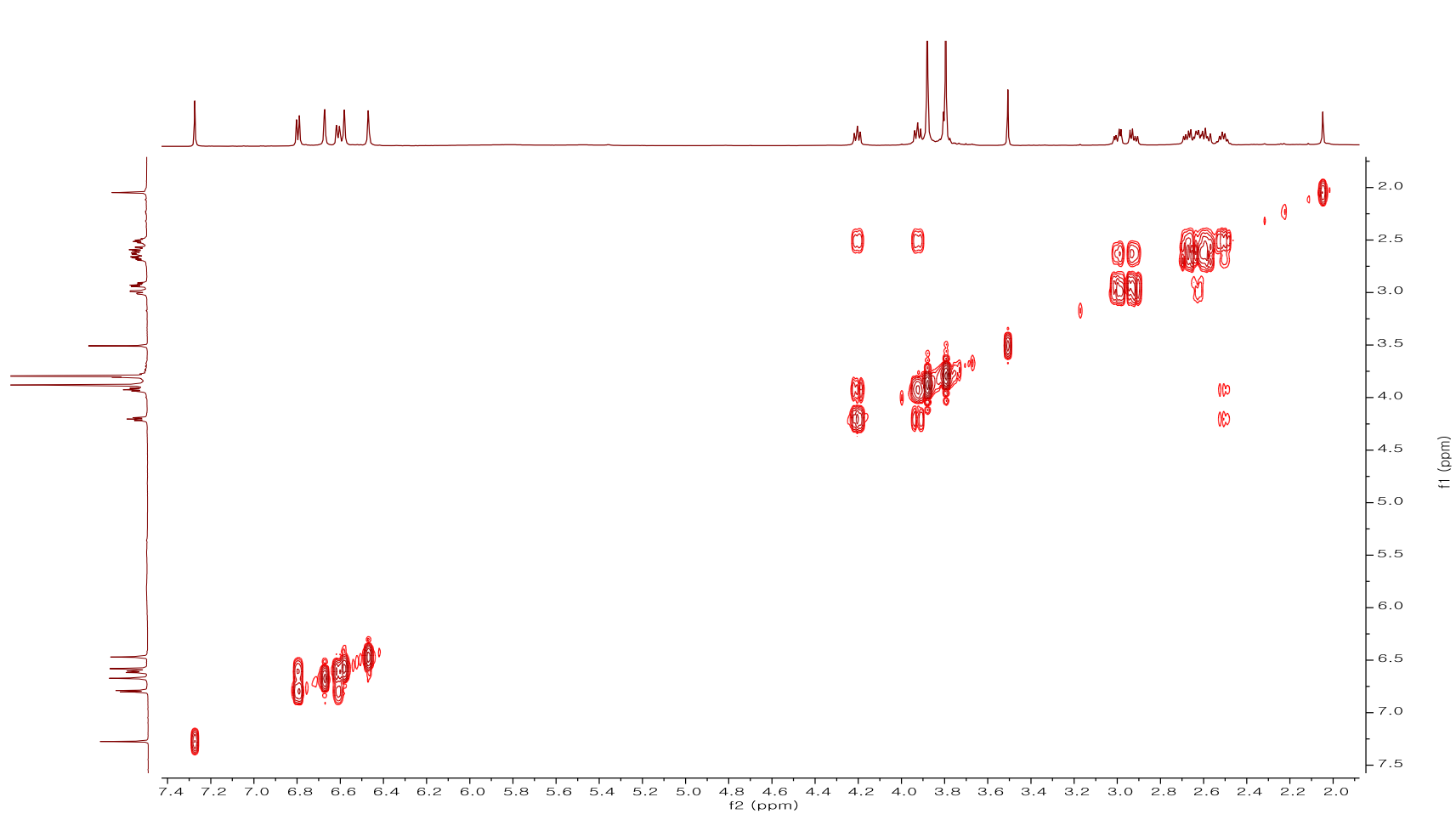


Figure S47. COSY spectrum of compound 1

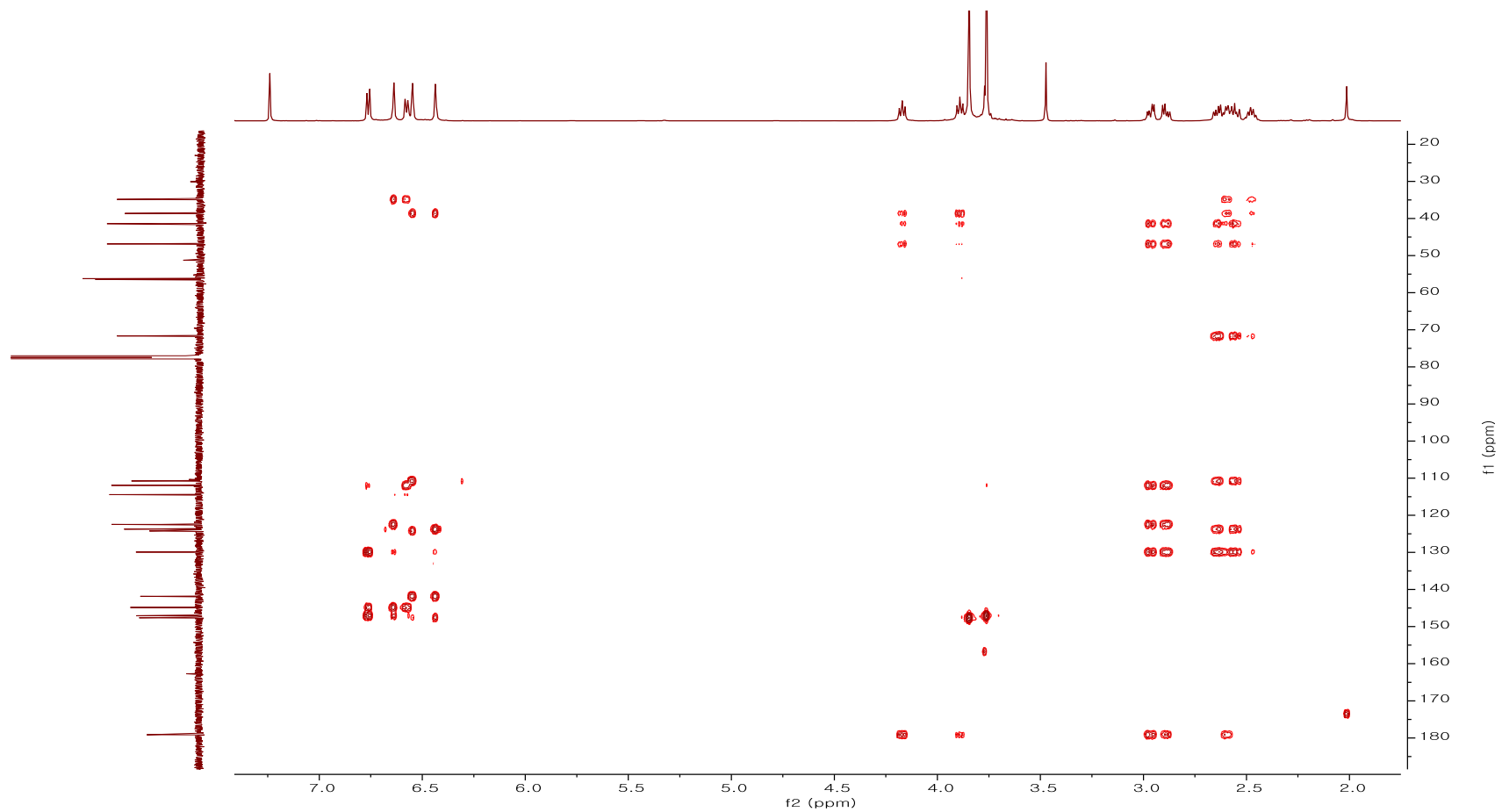


Figure S 48. HMBC spectrum of compound 1

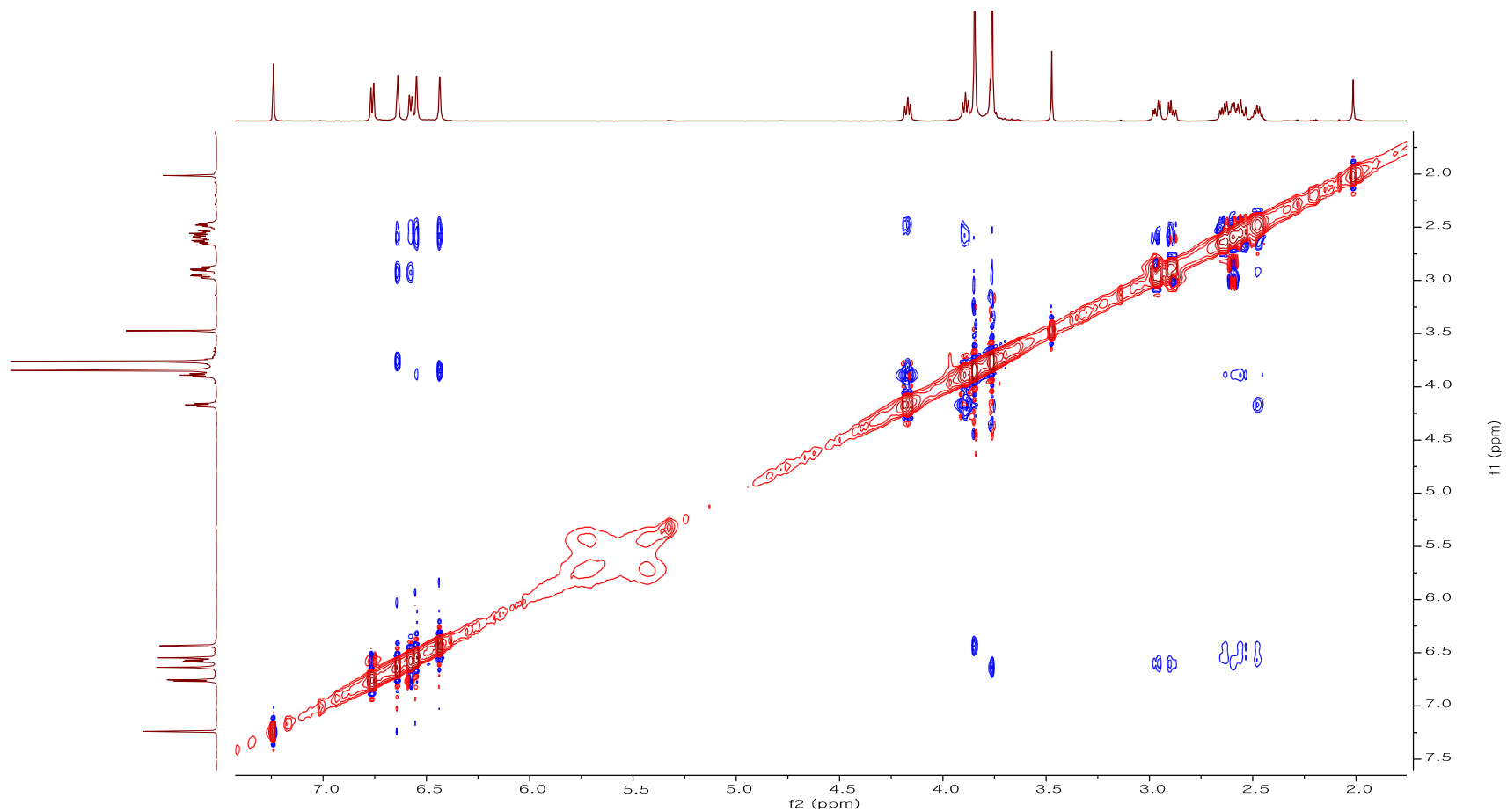


Figure S49. NOESY spectrum of compound 1

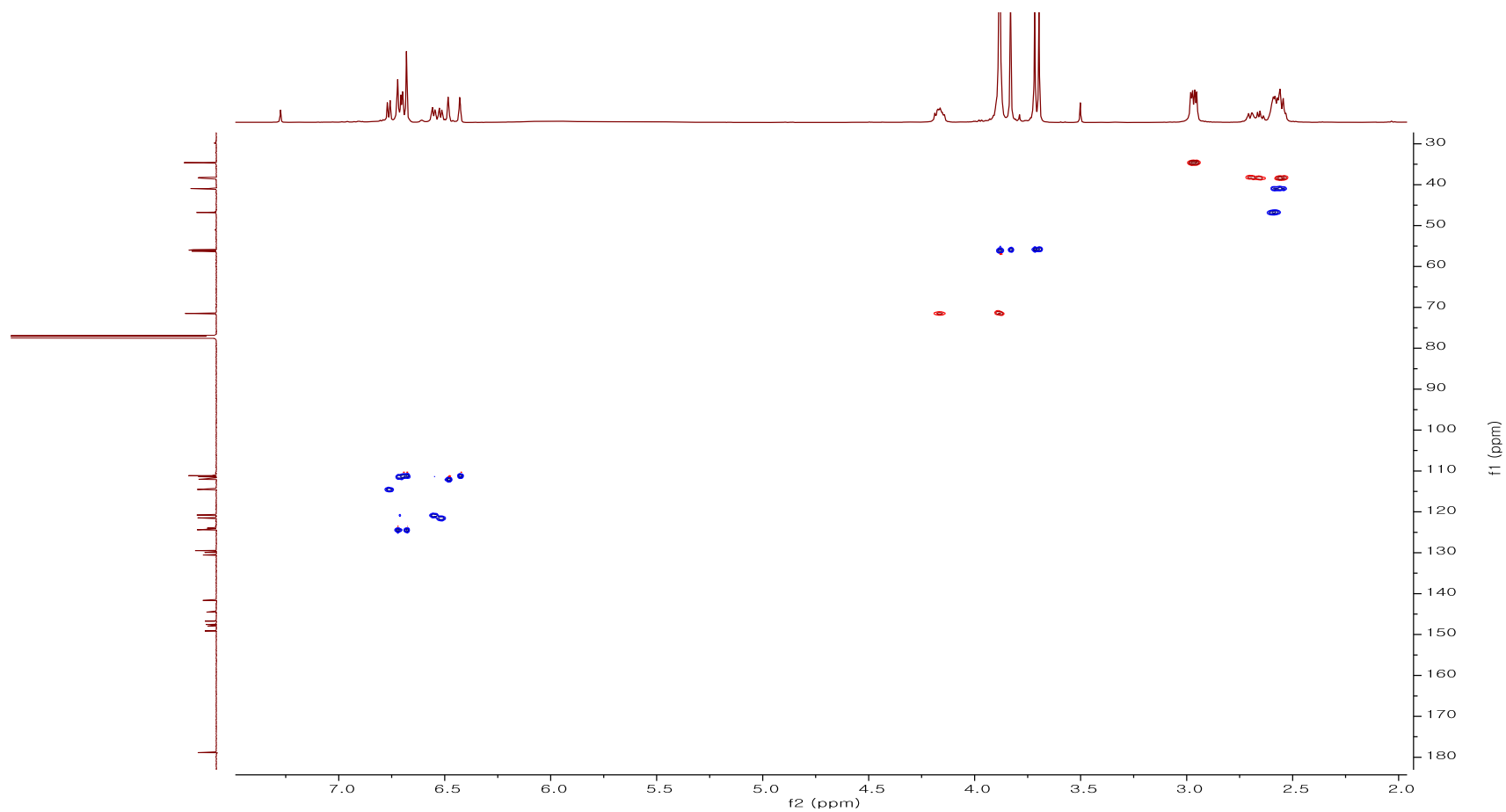


Figure S50. HSQC spectrum of compound 2

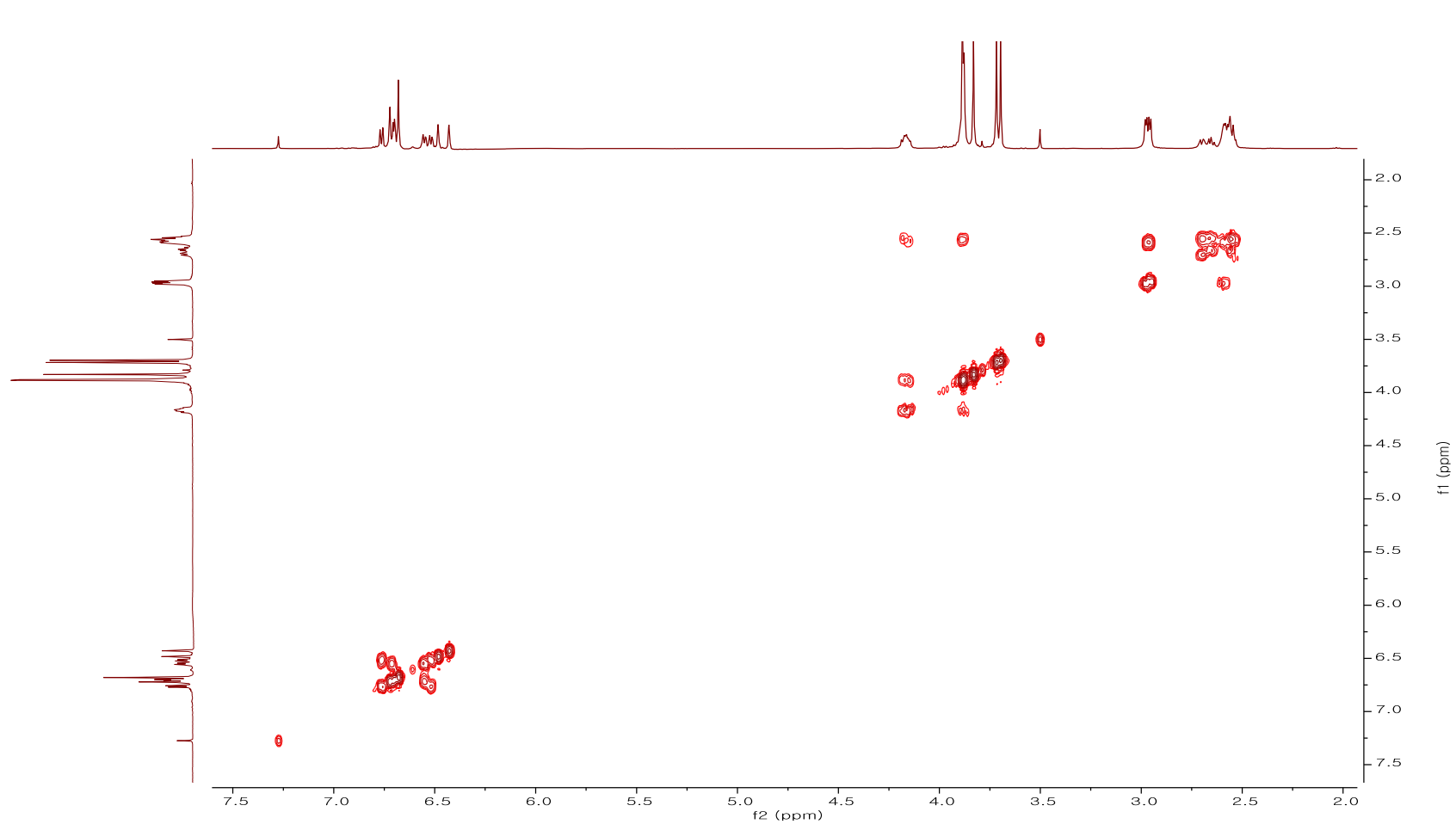


Figure S51. COSY spectrum of compound 2

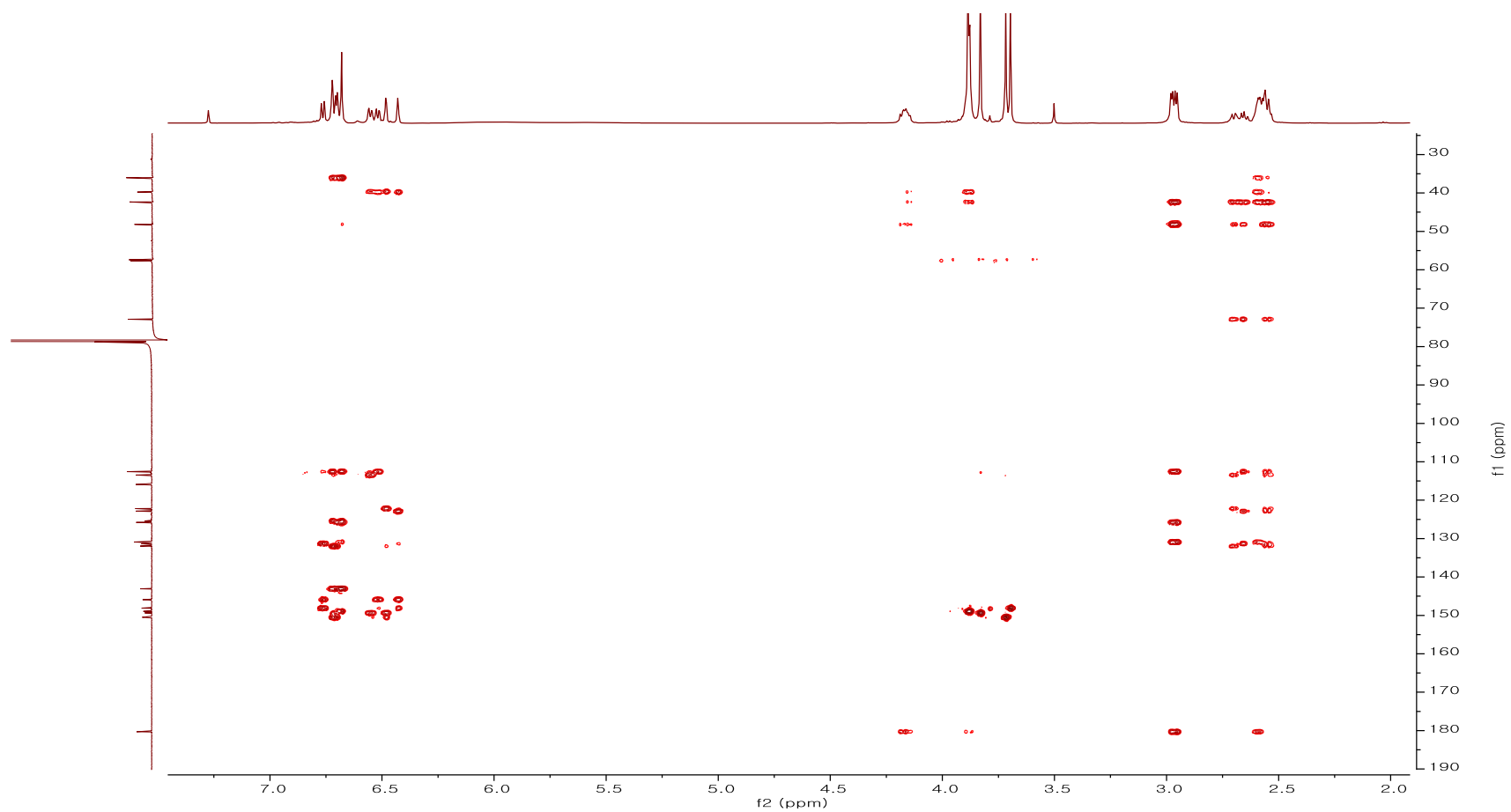


Figure S52. HMBC spectrum of compound 2

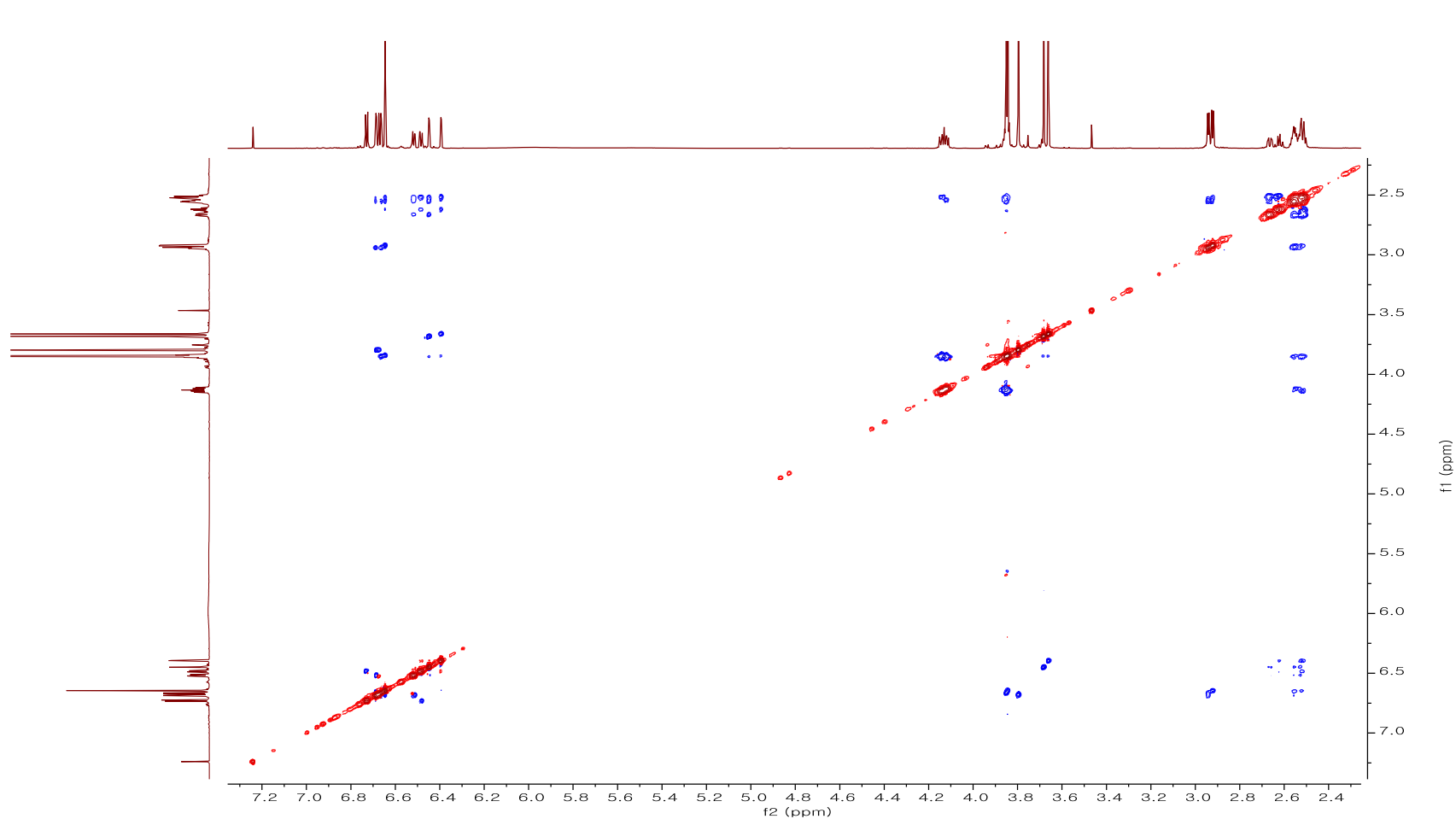


Figure S53. NOESY spectrum of compound 2

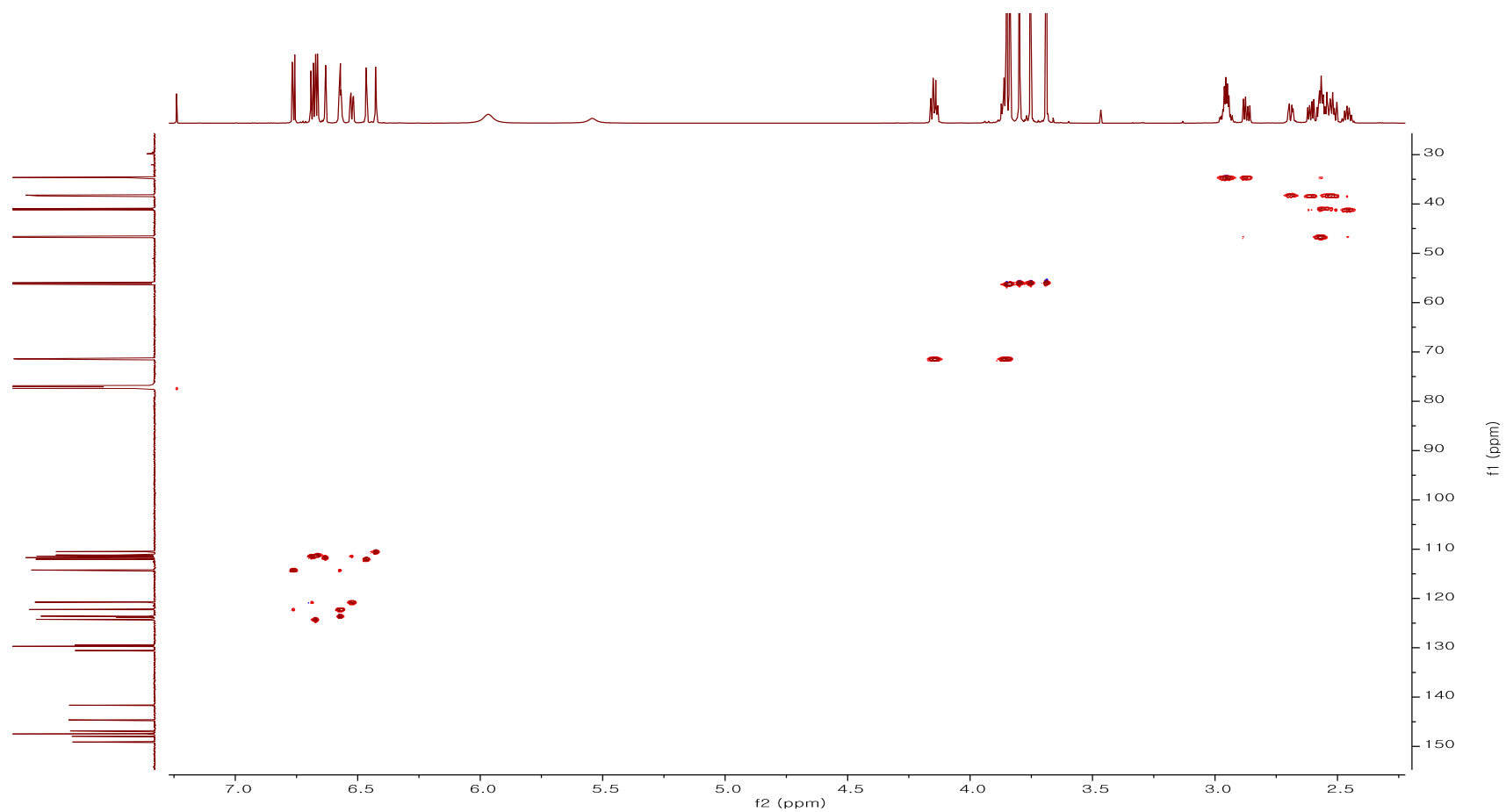


Figure S54. HSQC spectrum of compound **3**

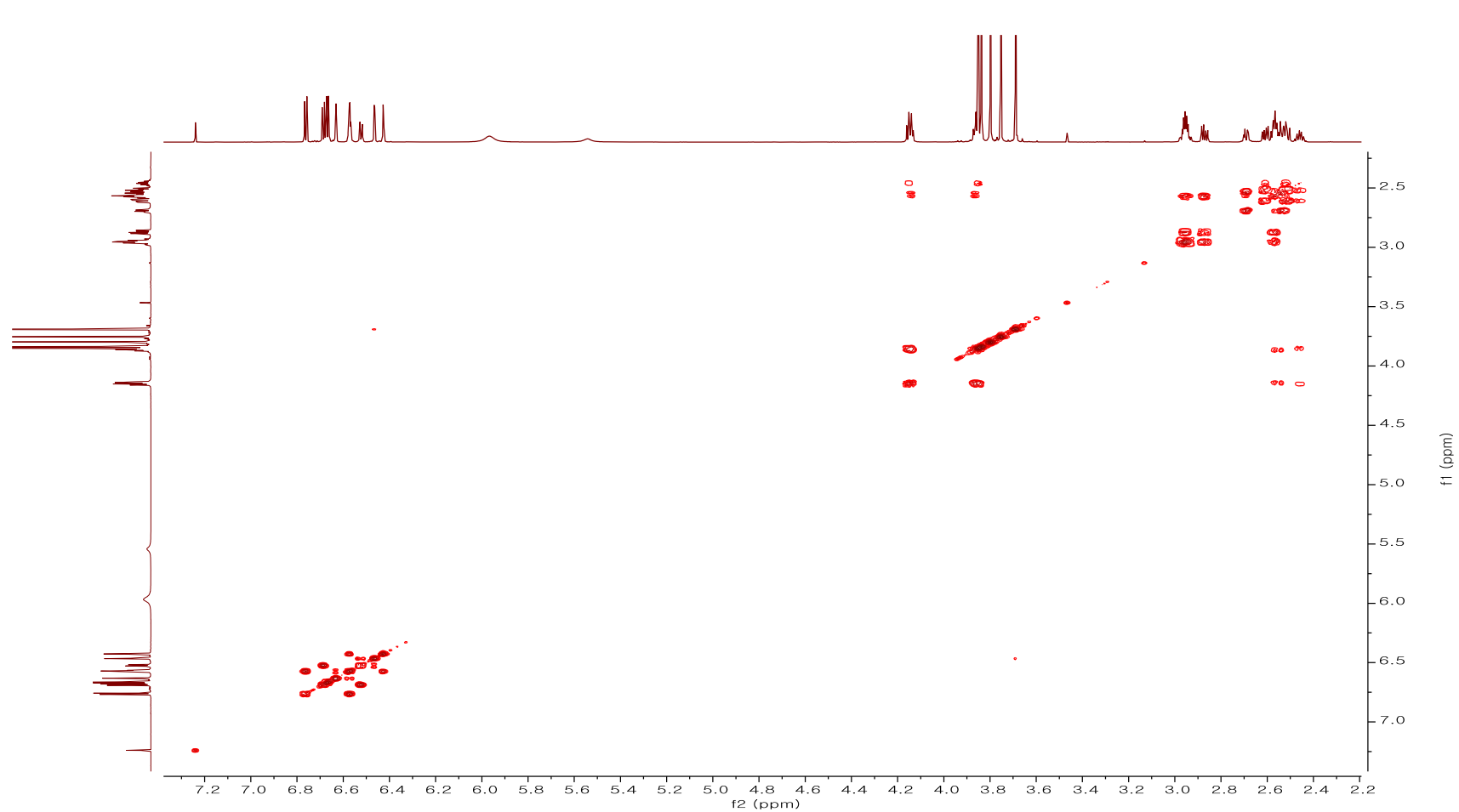


Figure S55. COSY spectrum of compound 3

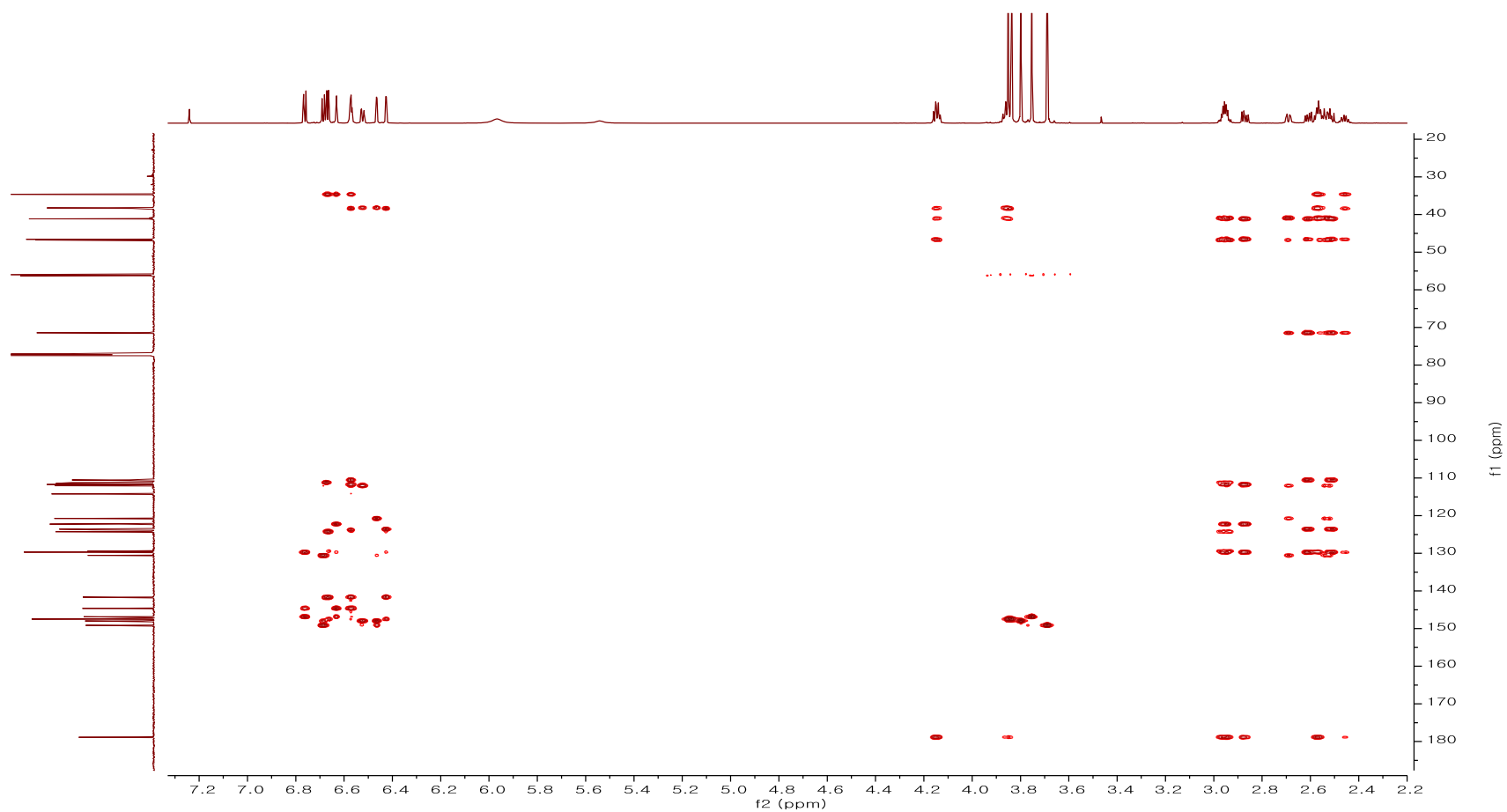


Figure S56. HMBC spectrum of compound 3

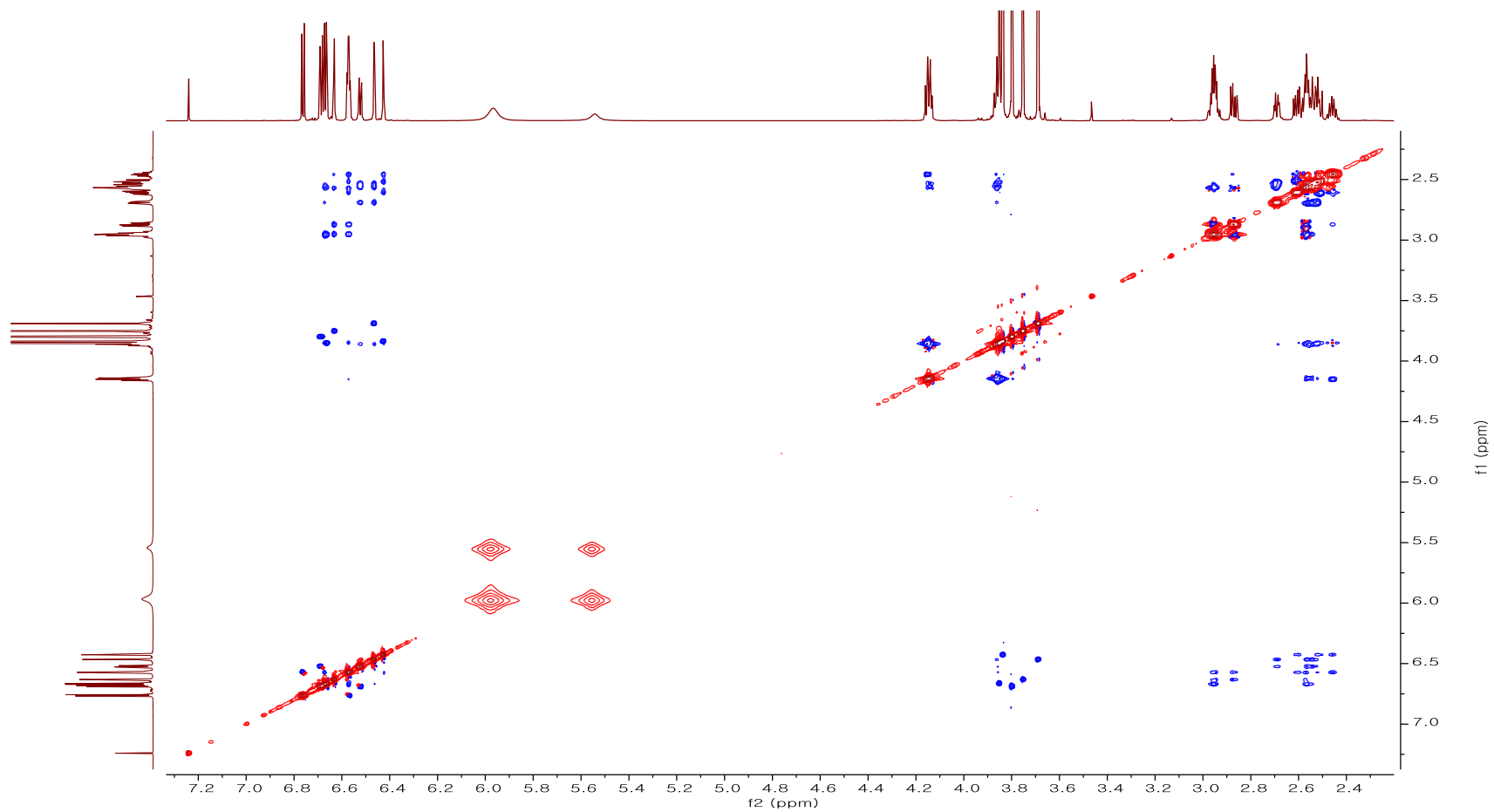


Figure S57. NOESY spectrum of compound 3

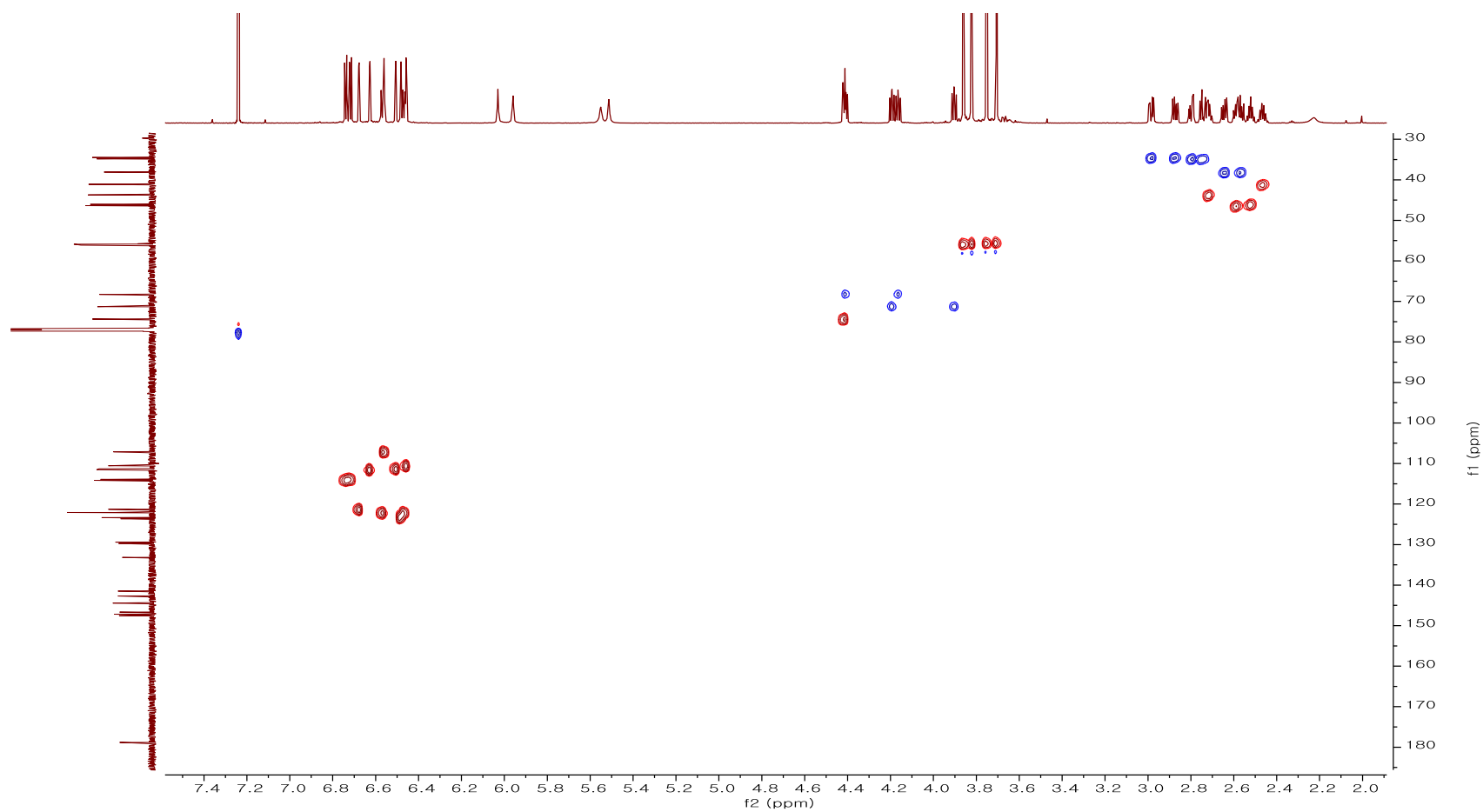


Figure S58. HSQC spectrum of compound 4

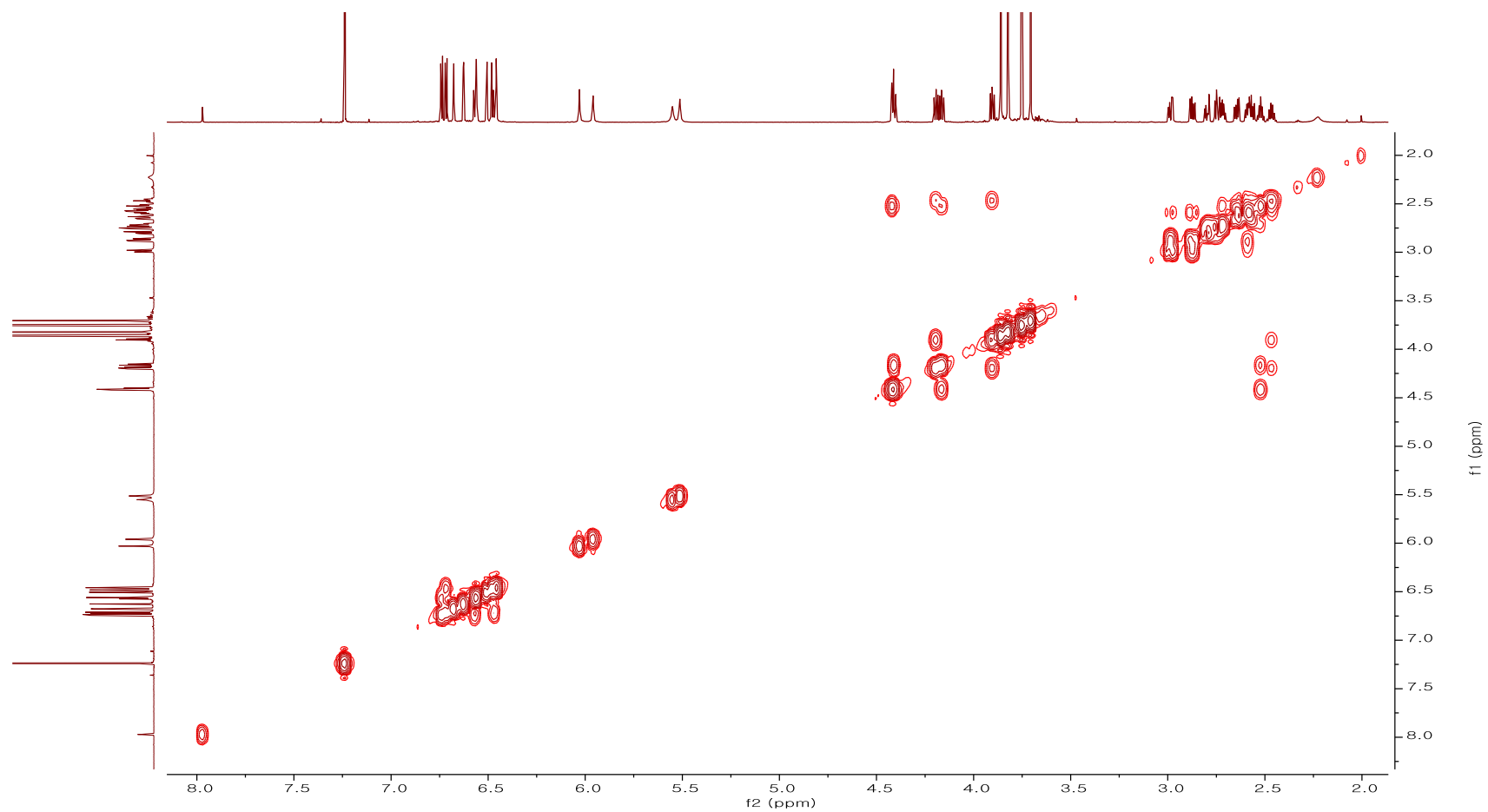


Figure S59. COSY spectrum of compound **4**

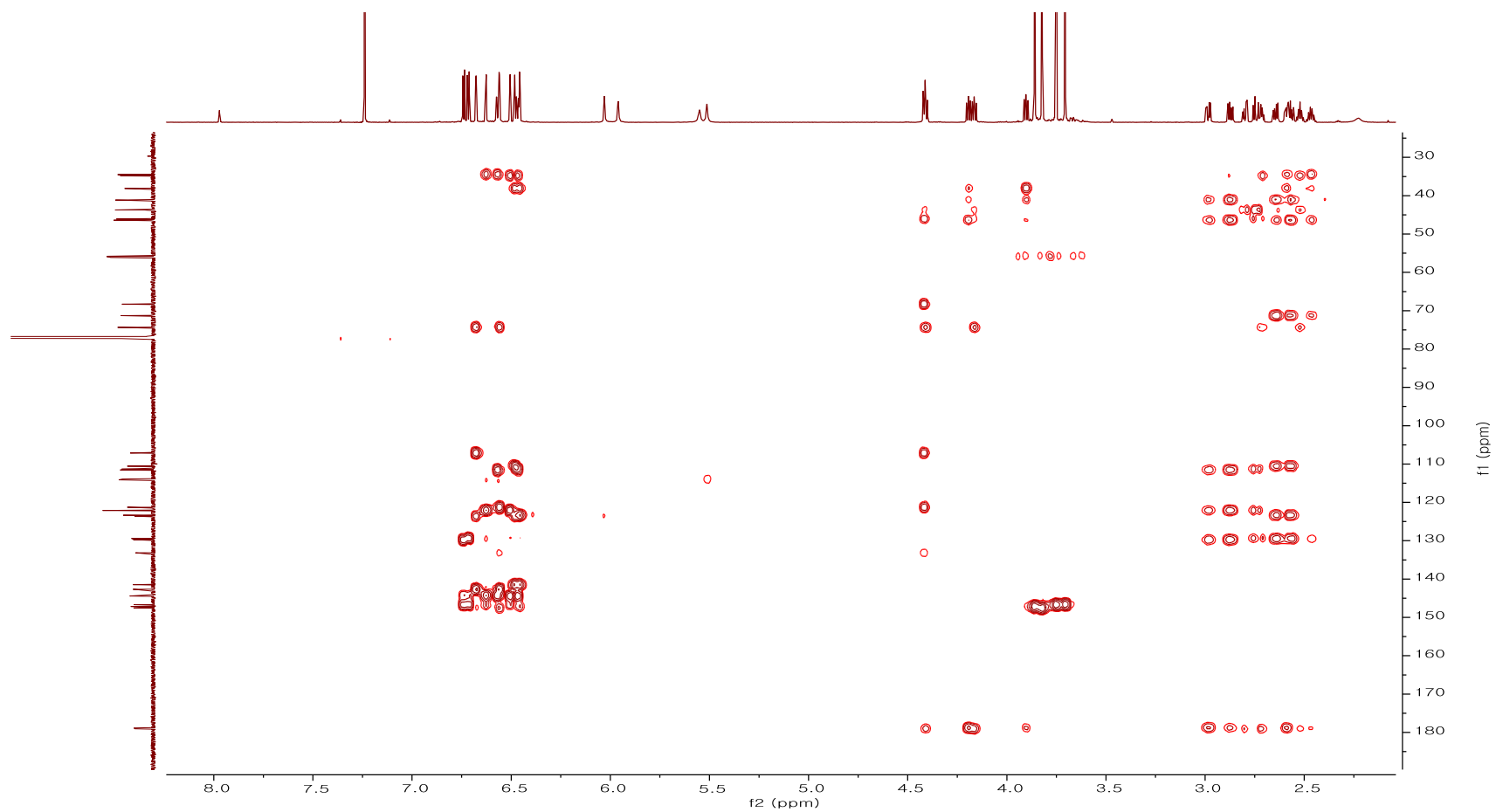


Figure S60. HMBC spectrum of compound **4**

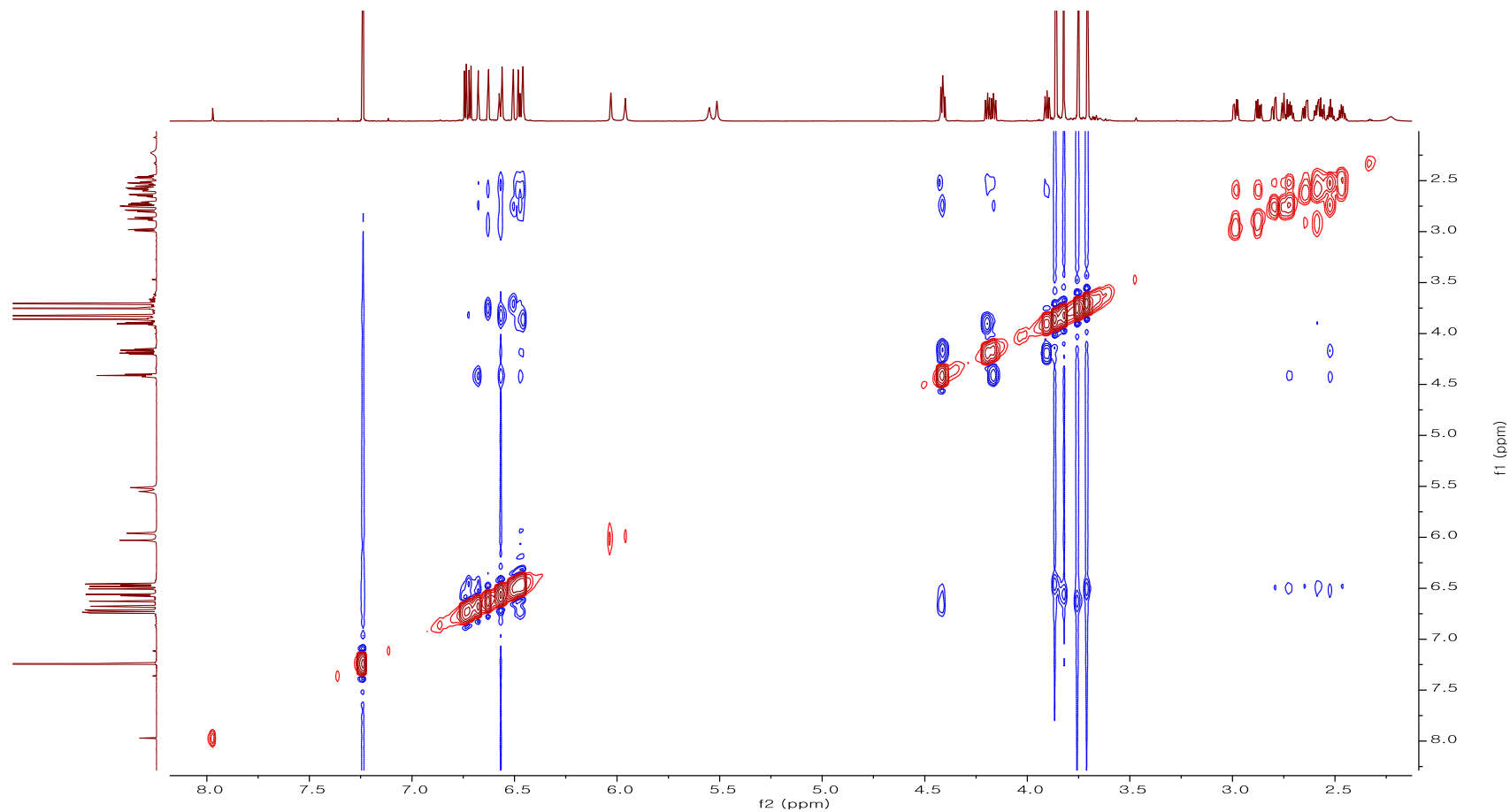


Figure S61. NOESY spectrum of compound 4

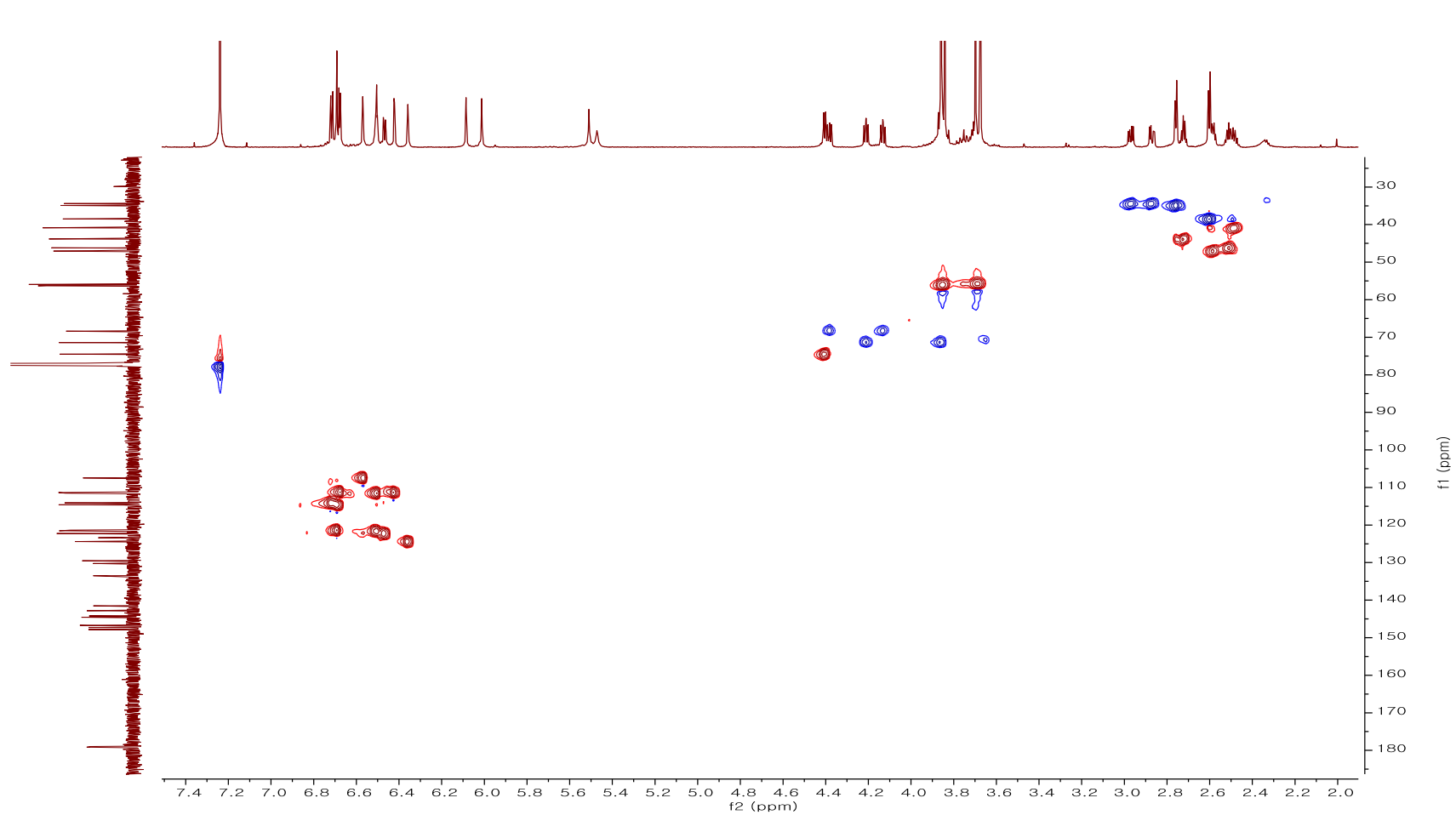


Figure S62. HSQC spectrum of compound 5

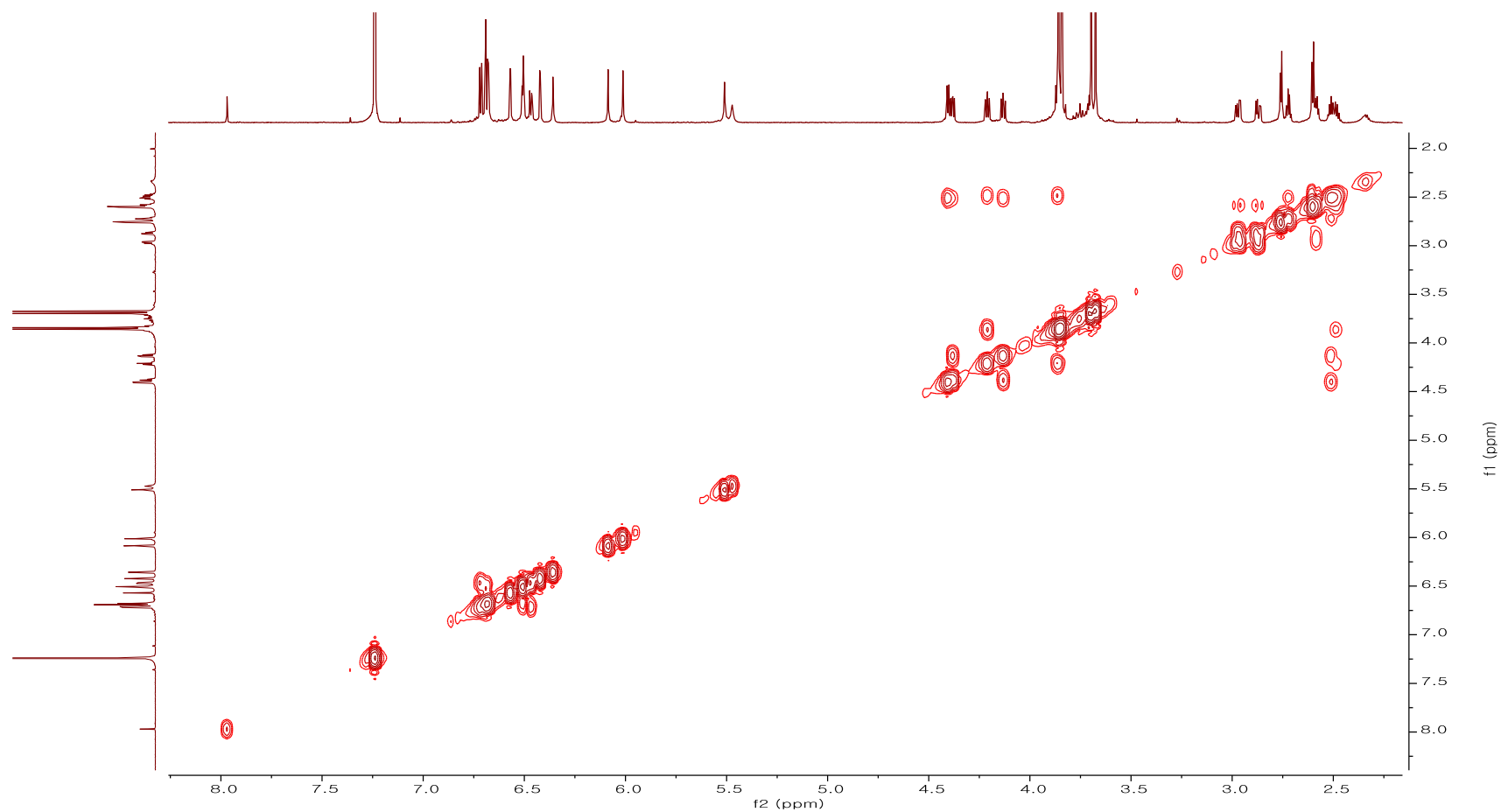


Figure S63. COSY spectrum of compound 5

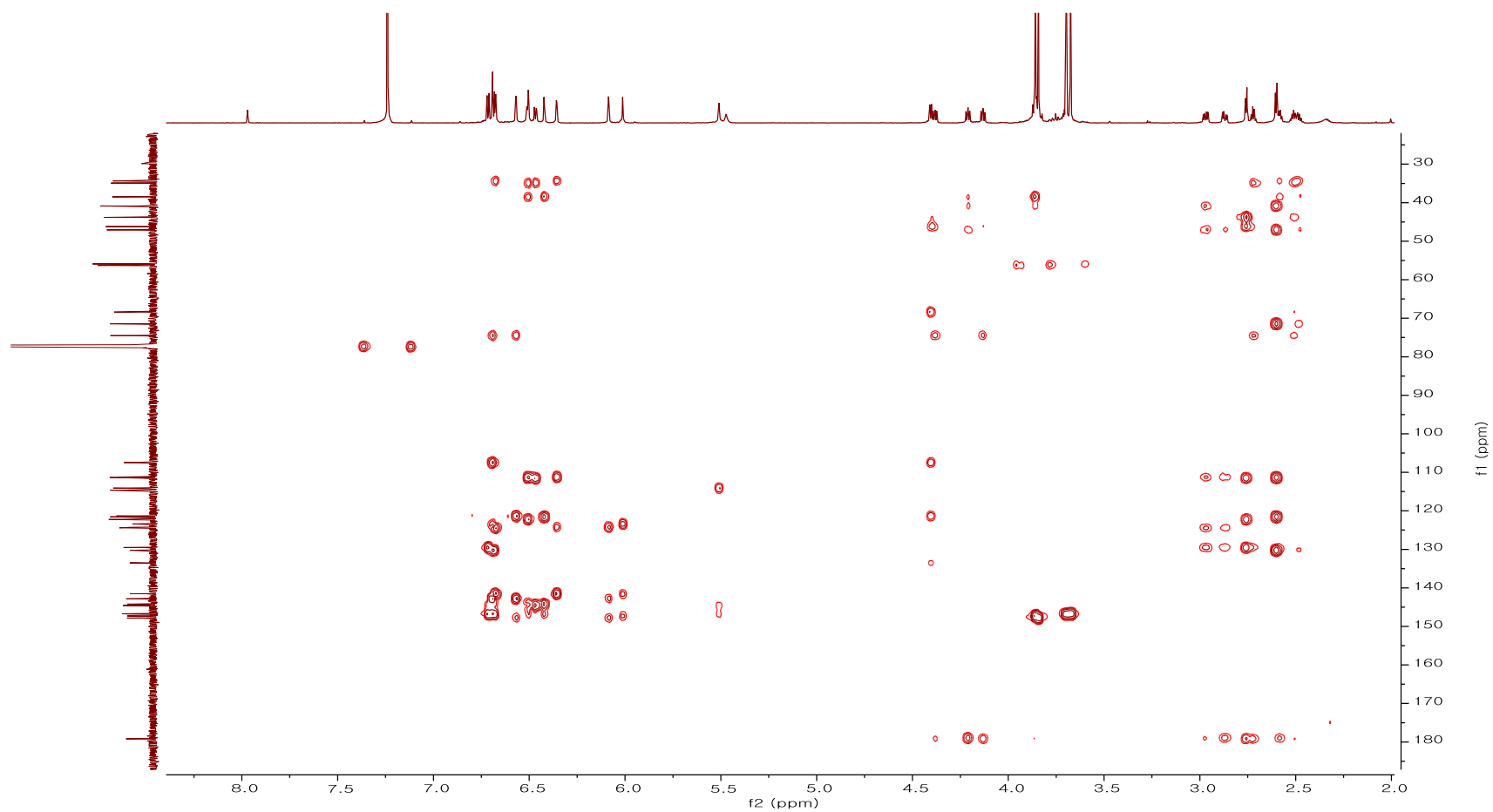


Figure S64. HMBC spectrum of compound **5**

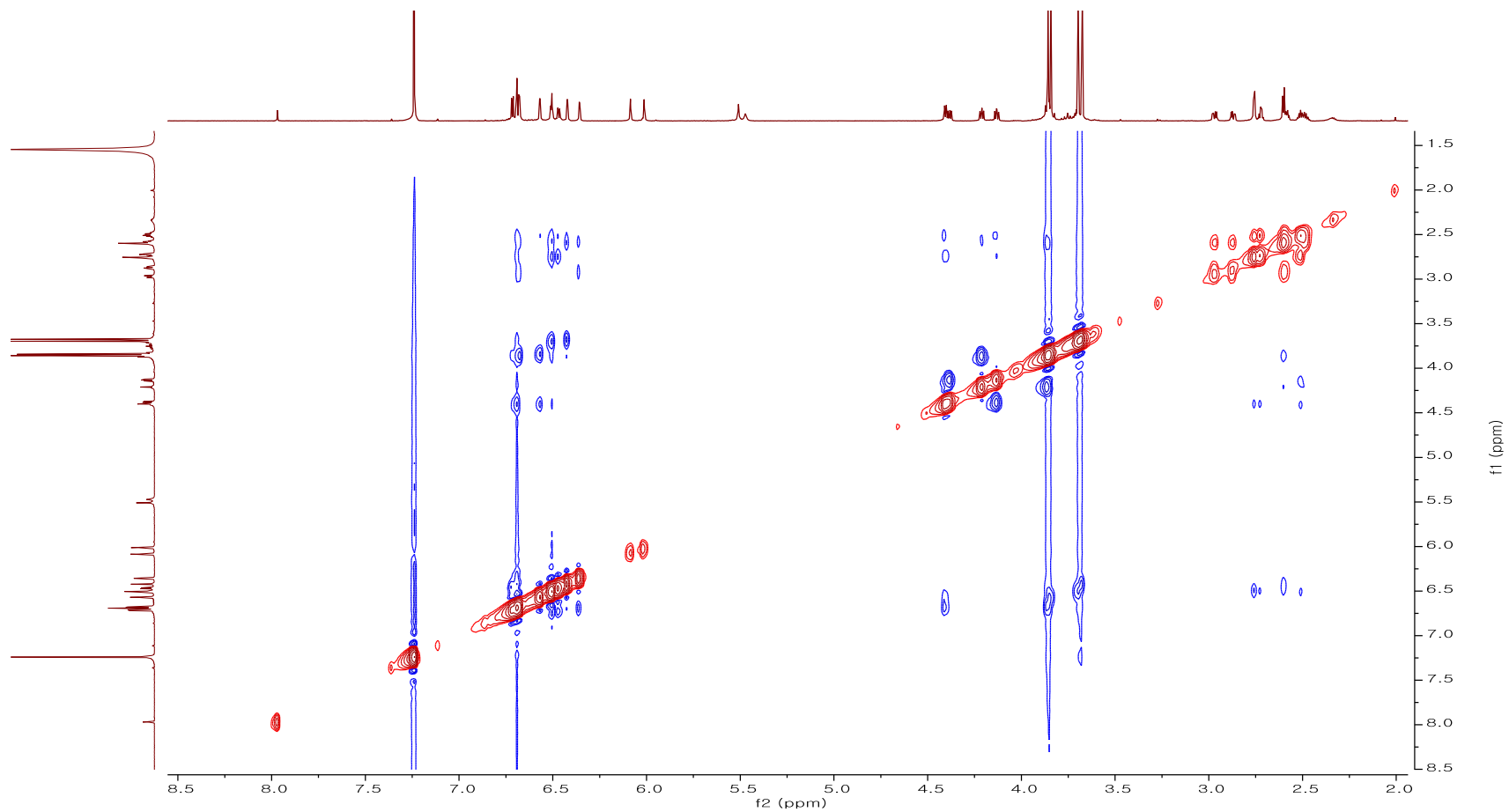


Figure S65. NOESY spectrum of compound **5**

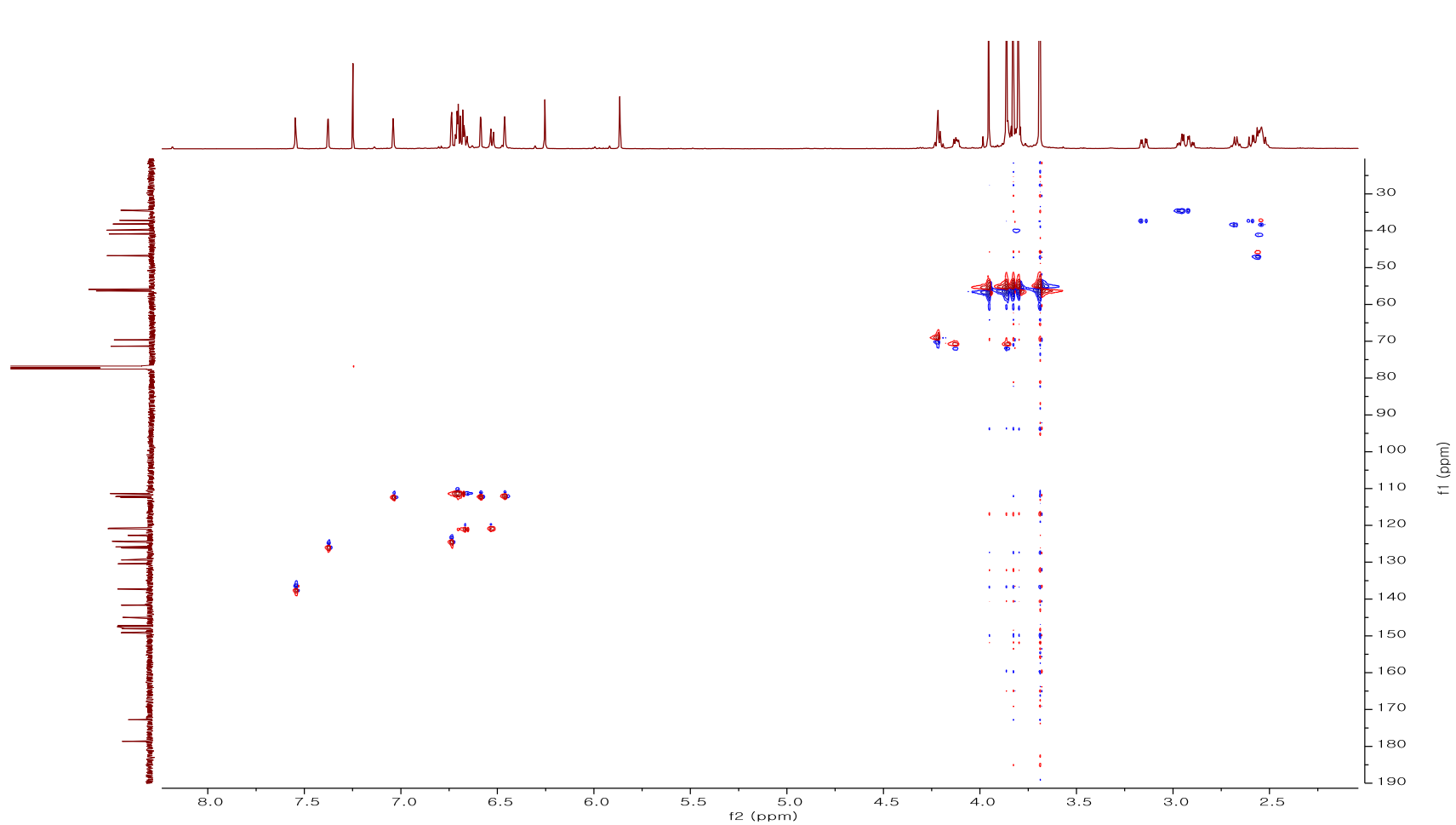


Figure S66. HSQC spectrum of compound 6

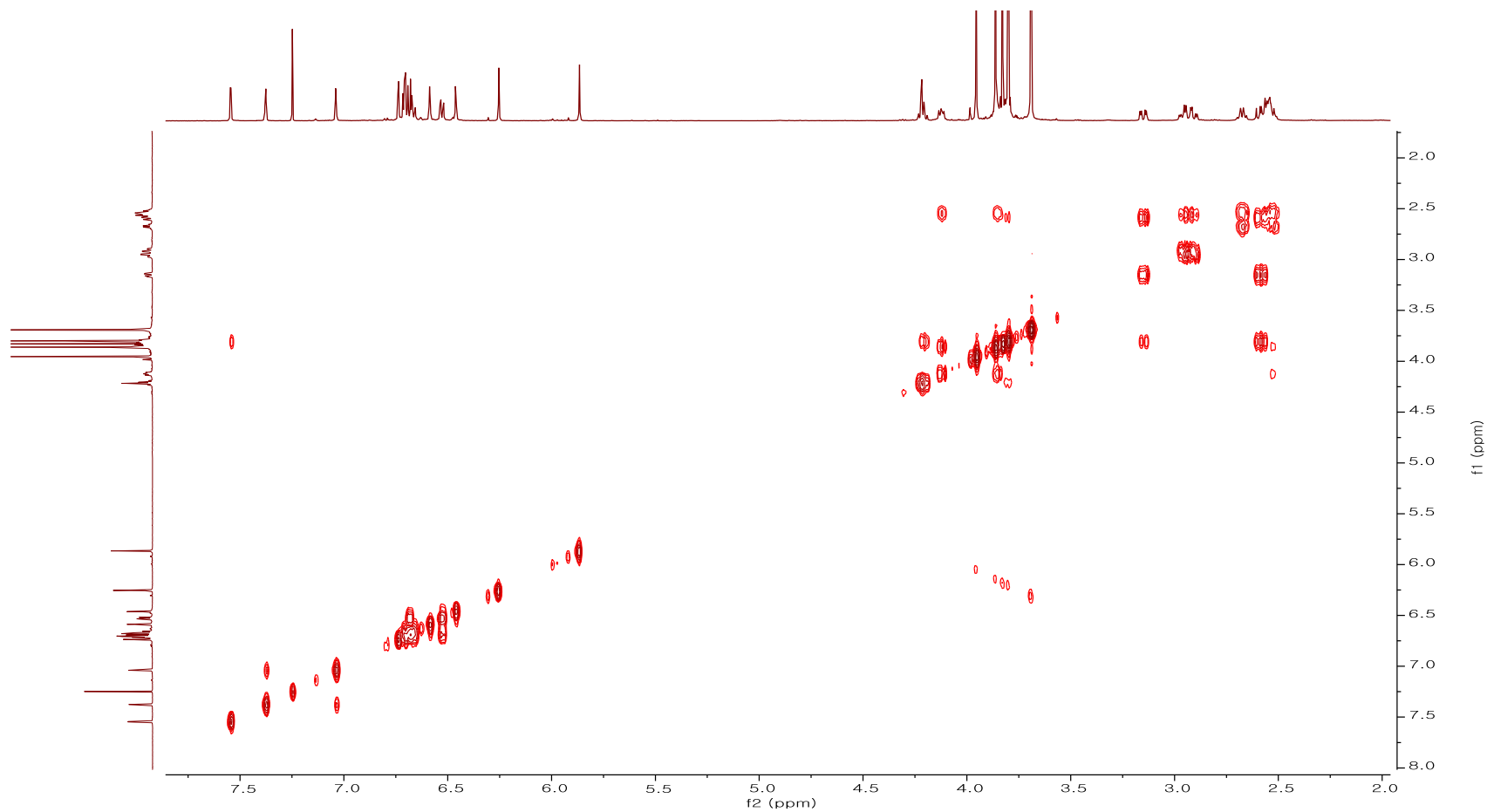


Figure S67. COSY spectrum of compound **6**

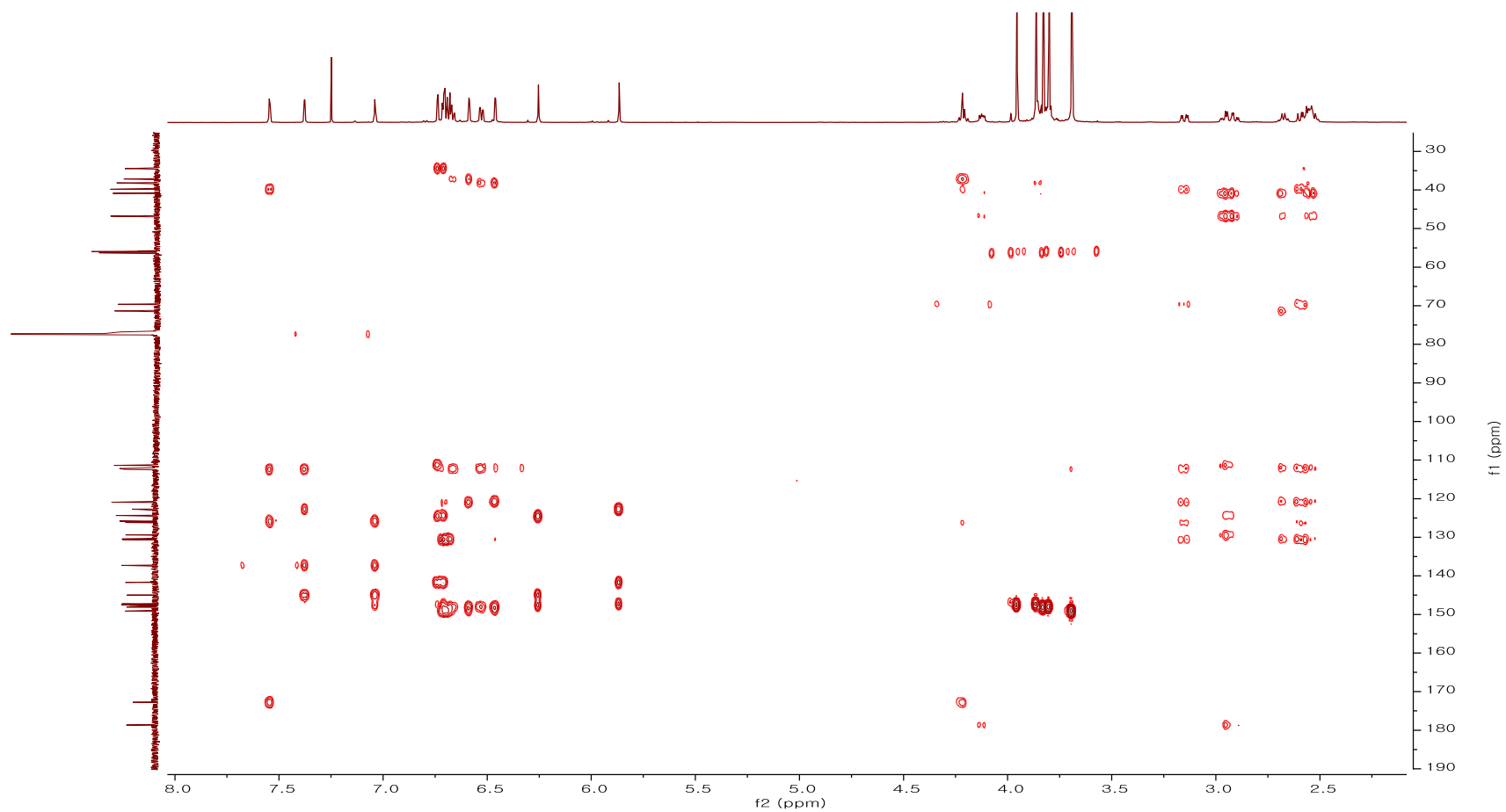


Figure S68. HMBC spectrum of compound 6

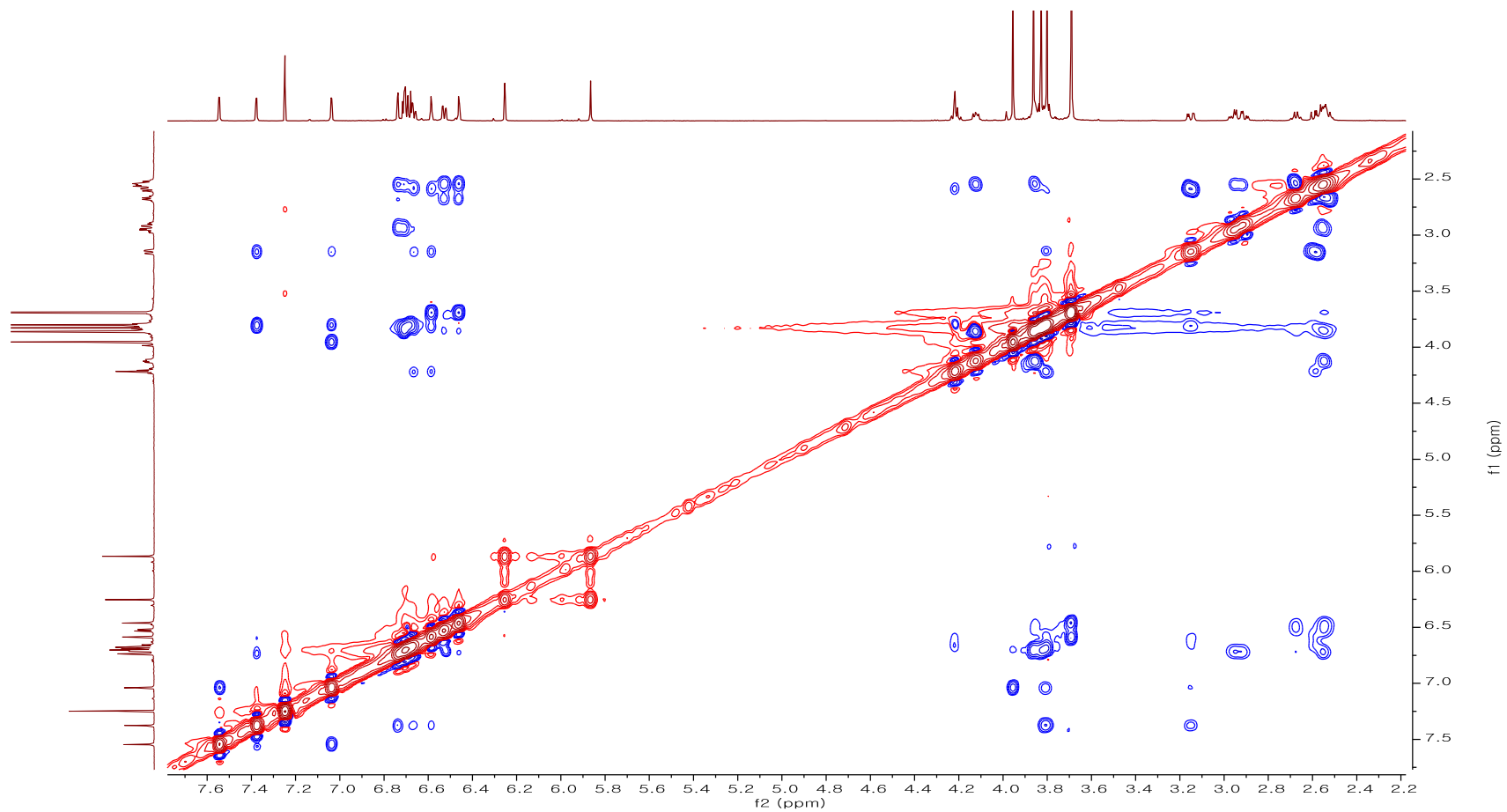


Figure S69. NOESY spectrum of compound 6

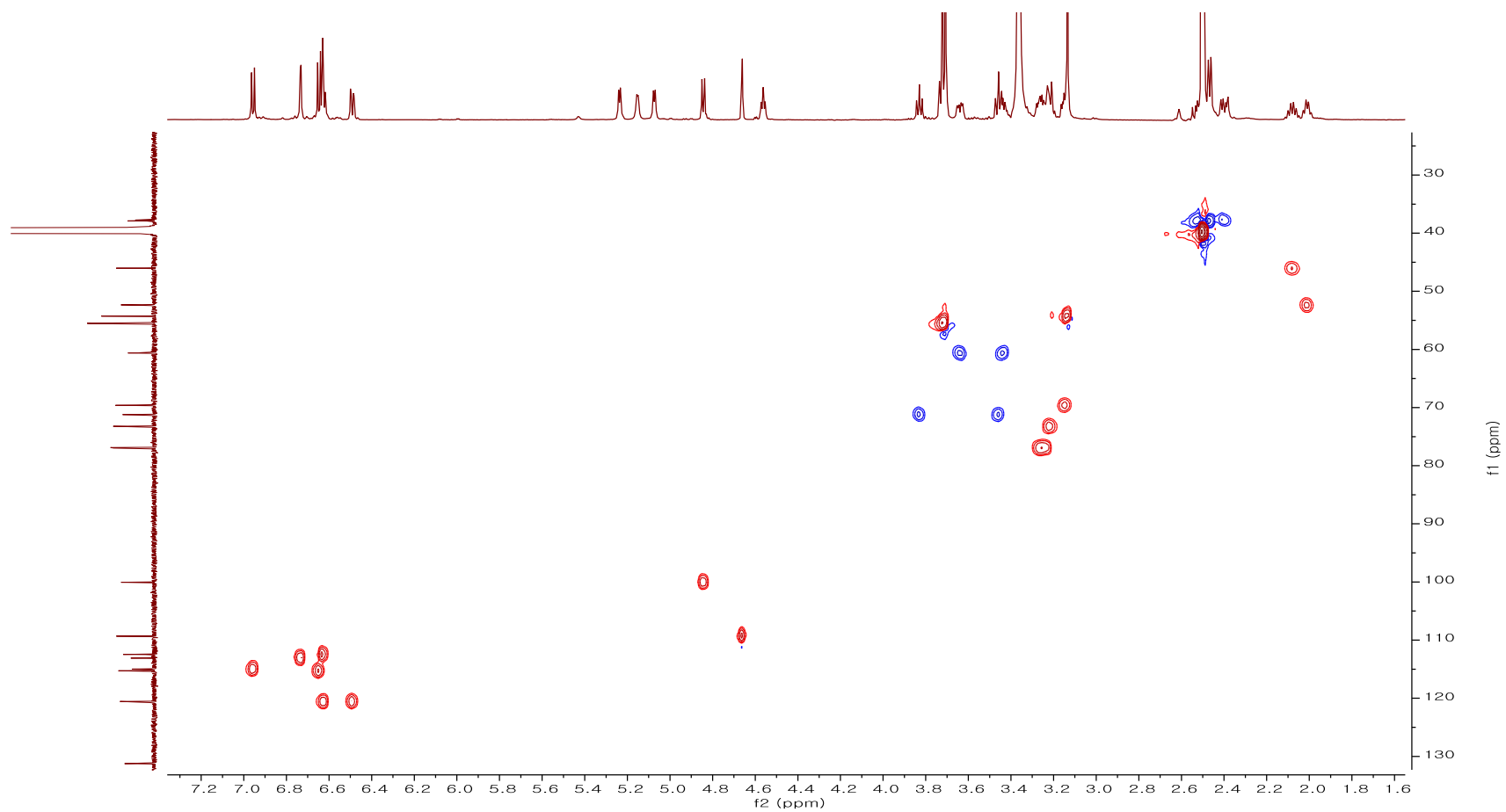


Figure S70. HSQC spectrum of compound 16

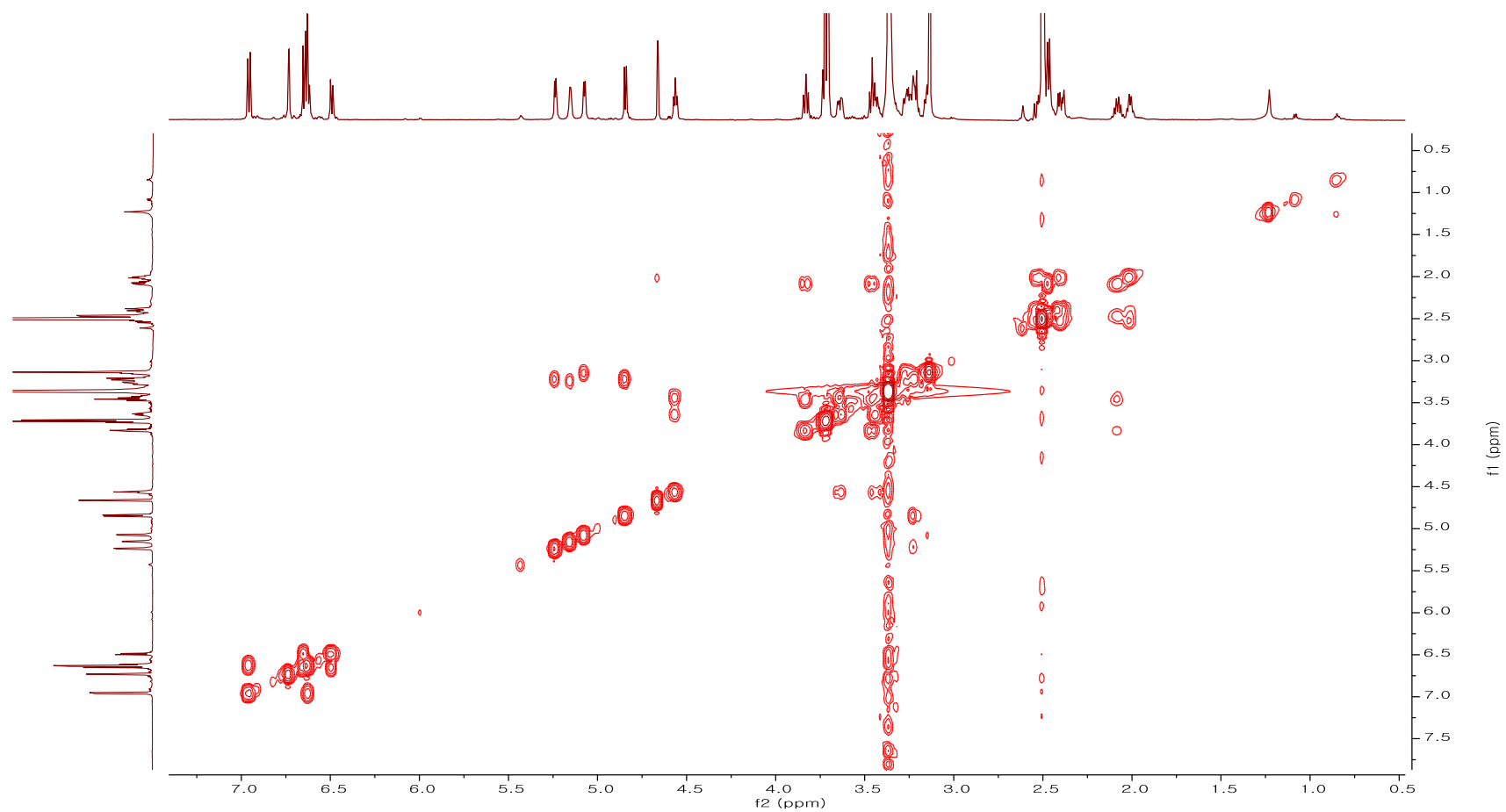


Figure S71. COSY spectrum of compound 16

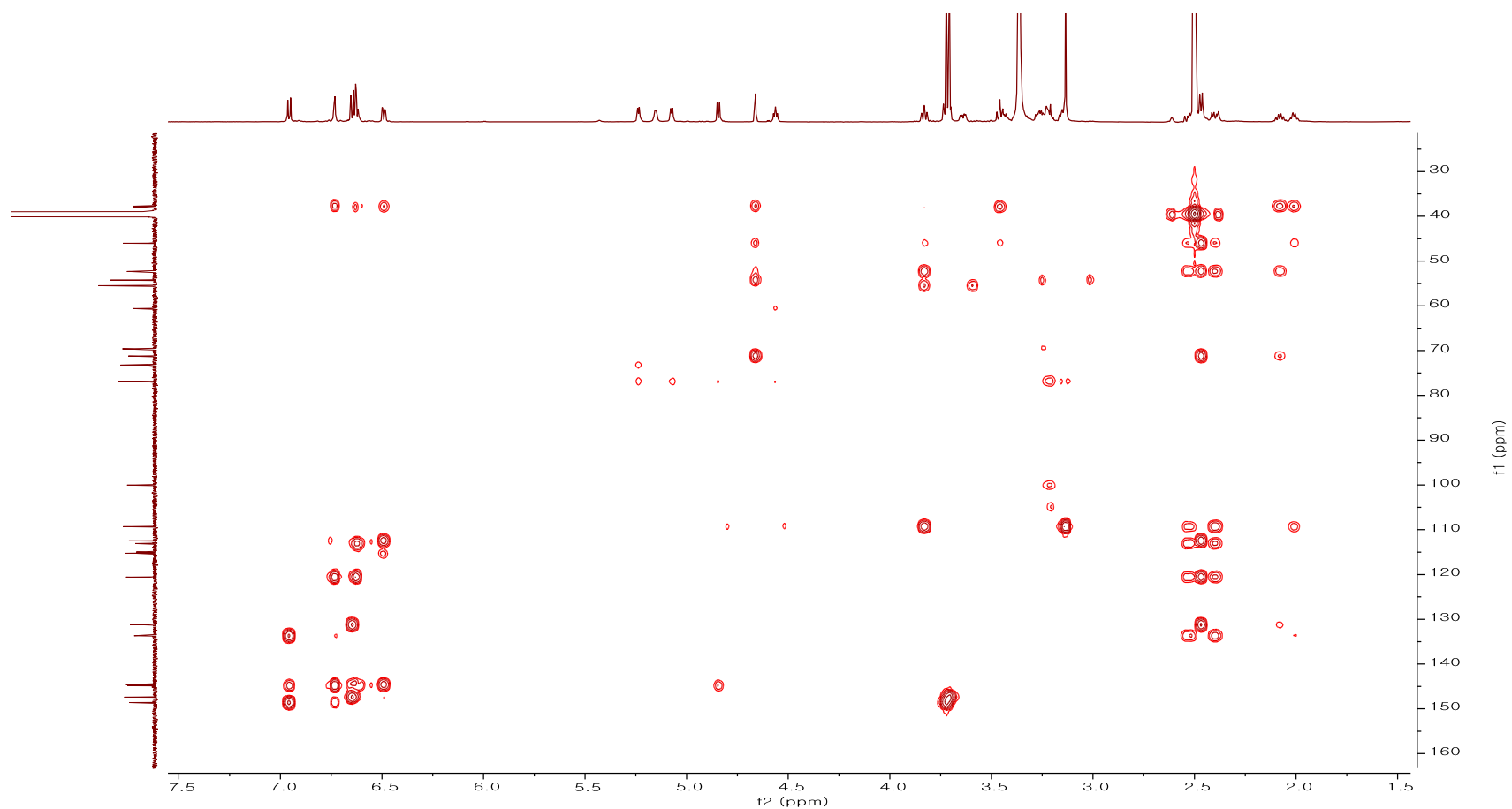


Figure S72. HMBC spectrum of compound 16

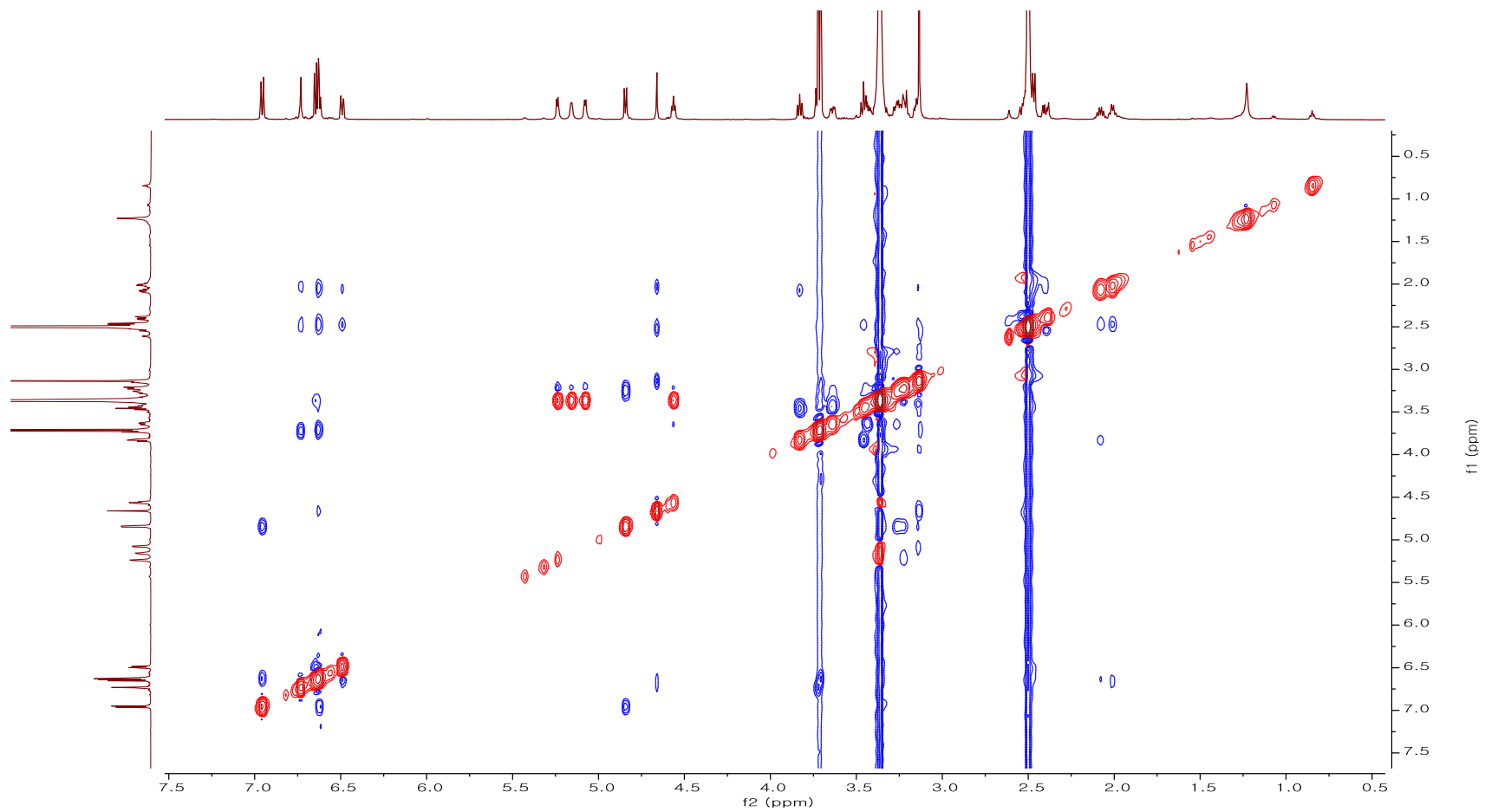


Figure S73. NOESY spectrum of compound 16